

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA SUPPURATION,

PAR M. J. DE CHRISTMAS.

Il y a déjà longtemps qu'on fait des recherches sur les causes de la suppuration, et les théories qui se sont suivies ont été bien divergentes.

Avant l'époque microbienne, on admettait généralement qu'il suffisait d'introduire une substance irritante sous la peau pour produire une suppuration, et que la suppuration était due seulement à l'irritation provoquée par la substance employée dans le tissu sous-cutané. Depuis, les opinions ont subi un changement profond. Les grandes découvertes qui ont démontré l'origine bactériologique de tant de maladies infectieuses ont eu pour conséquence naturelle de faire entrer les recherches sur l'étiologie de la suppuration dans des voies nouvelles. De nombreux travaux, parmi lesquels il faut surtout citer celui de *Rosenbach*, ont démontré que toutes les suppurations aiguës chez l'homme sont dues aux microbes, que ces microbes sont toujours les mêmes et qu'ils appartiennent toujours à quelques formes bien caractérisées. De plus, ces microbes inoculés sur les animaux ou sur l'homme produisent toujours de la suppuration.

Telles sont les notions auxquelles se sont ralliés la plupart des auteurs. La conclusion était facile à tirer; on l'a érigée en

principe qui avait force de loi : *la suppuration est due aux microbes; sans microbes, pas de suppuration.*

Cette théorie a été admise sans réserve non seulement par les chirurgiens, mais aussi par les bactériologistes. Et, en effet, les expériences qui ont servi de contre-épreuve la rendaient parfaitement acceptable. On a injecté sur des animaux des substances irritantes, en s'entourant des précautions antiseptiques les plus strictes, et elles n'ont pas produit de suppuration. C'est ainsi que *Ruys*¹ a trouvé qu'on peut injecter des substances très irritantes dans la chambre antérieure de l'œil du lapin sans produire aucune suppuration, à la condition, bien entendu, que la seringue et la solution employées soient stérilisées. Il a fait ses expériences avec l'essence de térébenthine, le pétrole et l'huile d'olive en parties égales. Dans un cas seulement, il s'est formé du pus dans lequel se trouvaient des microbes; dans tous les autres cas il a vu se produire, dans la chambre antérieure, une petite exsudation fibrineuse qui était toujours résorbée quelque temps après.

*Scheuerlen*² a obtenu un résultat tout à fait semblable en employant un procédé différent. Les substances chimiques dont il désirait étudier les effets pyogènes étaient d'abord introduites dans des tubes capillaires; ces tubes fermés et stérilisés étaient ensuite placés avec des précautions antiseptiques sous la peau de l'animal (le lapin). On ne les brisait qu'au moment où la plaie cutanée était tout à fait guérie. Scheuerlen a introduit par ce procédé de l'huile de croton, de l'essence de térébenthine, de l'ipéca, du tartre stibié, etc., sous la peau du lapin. Dans aucun cas il ne s'est produit de la suppuration, et l'auteur se croit autorisé à conclure que la suppuration ne peut être produite que par des microbes.

En France, *Straus*³ a fait un grand nombre d'expériences dans le but de résoudre le même problème. Elles ont été faites sur des lapins, des rats, des cobayes qu'il a inoculés avec l'essence de térébenthine, l'huile de croton, l'eau chaude, différentes substances solides, etc. Il est arrivé aux mêmes résultats. Dans dix-huit expériences faites avec l'essence de térébenthine, M. Straus n'a vu que cinq cas de suppuration, et toujours il a trouvé le pus

1. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1885, n° 48.

2. *Archives de Langenbeck*, vol. XXXII.

3. *Bulletin de la Société de biologie*, 1883, p. 651.

plein de microbes. Sur cinq expériences faites avec l'huile de croton, quatre ont donné un résultat négatif; dans la cinquième, il s'est produit une suppuration, mais le pus contenait des microbes. Enfin dans cinq expériences d'injection sous-cutanée de 10 grammes de mercure sur le cobaye, on n'a pas vu survenir de suppuration.

La question semblait donc résolue. Le nombre et la variété des expériences, l'autorité de ceux qui les ont faites ne laissent aucun doute sur la loi générale qui devait être établie. Les conclusions du reste s'imposaient d'elles-mêmes. Aussi ont-elles été formulées nettement : la suppuration est le résultat d'une action microbienne; il ne se produit pas de suppuration si les microbes ne trouvent aucune voie pour entrer dans les tissus soumis à l'influence de la substance irritante. L'inflammation plus ou moins forte que ces substances irritantes développent par elles-mêmes n'aboutit jamais à une formation de pus.

Si bien fondés que puissent paraître ces résultats, ils ont pourtant été l'objet de discussions nombreuses. D'autres expérimentateurs, en employant les mêmes substances, sont arrivés à des résultats opposés. Ils ont trouvé que certaines substances chimiques peuvent produire une vraie suppuration dans laquelle il est impossible de découvrir la présence de microorganismes, même en employant toutes les méthodes qui sont maintenant à notre disposition pour la démonstration de la présence des ferments. Parmi ces investigateurs, nous citerons M. *Councilmann*¹, qui introduisait des petites capsules en verre stérilisées, remplies d'huile de croton, sous la peau des animaux en expérience. Après la guérison complète de la plaie cutanée, ces capsules étaient brisées pour que l'huile de croton pût agir sur le tissu. Il remarquait alors la formation de petits abcès autour de la capsule brisée. Le pus ne renfermait pas de microbes.

*Orthmann*² et *Uskoff*³ ont également démontré que l'essence de térébenthine et le mercure inoculés sous la peau du chien produisaient une suppuration abondante, et que le pus ne contenait pas de microbes.

*Grawitz et de Bary*⁴ ont obtenu les mêmes résultats. Ces

1. *Archives de Virchow*, vol. XCII, p. 217.

2. Id., vol. XC, p. 579.

3. Id., vol. LXXXVI, p. 510.

4. Id., vol. CVIII, p. 67.

savants, qui ont étudié la question avec beaucoup de soin, ont trouvé que le sublimé, l'alcool, les acides et les alcalis ne peuvent pas produire d'abcès, mais qu'une injection d'une forte dose de nitrate d'argent ou d'essence de térébenthine dans le tissu sous-cutané du chien donnait lieu à une suppuration, sans qu'on pût arriver à découvrir des microbes dans le pus. *Grawitz* vient de publier (*Archives de Virchow*, vol. CX) quelques expériences faites avec la cadavérine, une ptomaïne isolée par *Brieger*, et avec laquelle on peut produire des abcès sans microbes chez le chien.

On voit donc que la question est loin d'être résolue. Bien que basée sur des données sérieuses, l'opinion prédominante de l'origine bactérienne de la suppuration est moins sûrement prouvée qu'on ne le croit généralement. Mais d'où viennent les contradictions? En se plaçant sur le même terrain, les expérimentateurs ont obtenu des résultats différents. Les moyens employés par les uns et les autres ont la même valeur. Aussi n'est-ce pas dans un défaut de méthode qu'il faut chercher la cause de ces résultats si profondément tranchés. Telle substance chimique peut agir sur un animal alors que sur d'autres espèces elle n'a aucun pouvoir irritant.

Désireux d'obtenir une solution du problème, nous avons fait un grand nombre d'injections de différentes substances chimiques sur des chiens et des lapins. Les expériences ont donné un résultat, en partie négatif, en partie positif. Nous donnerons d'abord la relation des premières, pensant qu'elles présentent un certain intérêt par leur contraste avec les résultats que nous avons obtenus plus tard et qui sont conformes à la théorie que nous soutenons. Ceux-ci permettent du reste d'expliquer d'une manière satisfaisante les différentes solutions auxquelles ont abouti les expériences faites jusqu'ici.

Les substances suivantes ont été inoculées *sous la peau* des lapins avec un résultat négatif : l'essence de térébenthine, le mercure, le pétrole, le chlorure de zinc à 10 0/0, la glycérine, le nitrate d'argent à 5 0/0. Les inoculations ont été faites avec une seringue stérilisée avec soin; la peau, à l'endroit de l'injection, avait été rasée, et désinfectée avec de l'eau phéniquée ou au sublimé. La solution inoculée avait été d'abord stérilisée, et la piqûre de l'aiguille cautérisée ensuite au thermo-

cautère. La dose injectée était d'un demi-centimètre cube.

Nous n'avons vu qu'une seule fois une suppuration abondante, après l'inoculation de l'essence de térébenthine; le pus était plein de *staphylococcus aureus*. Dans toutes les autres expériences dont le nombre s'élève à trente, nous n'avons vu aucune trace de suppuration. Les substances étaient résorbées, mais en s'accompagnant de phénomènes différents. La glycérine, le chlorure de zinc, le nitrate d'argent n'ont donné lieu à aucune irritation remarquable du tissu sous-cutané, tandis qu'avec le mercure, l'essence de térébenthine, le pétrole, il s'est produit autour de l'endroit de l'inoculation une petite infiltration qui jamais n'a donné lieu à une vraie formation du pus.

La même série de substances a été injectée dans la chambre antérieure de l'œil du lapin. Le résultat a été le même pour toutes les substances employées, excepté pour le mercure. Inutile d'ajouter que les mêmes précautions ont été prises que pour les injections sous-cutanées. Il y a toutefois un accident qu'il faut absolument éviter, c'est la piqure de l'iris. On comprend toute l'utilité de cette recommandation. L'iris blessé s'enflamme avec la plus grande facilité. Mais il est facile d'éviter cette complication si l'on a soin de fixer le globe de l'œil pendant la pénétration de l'aiguille dans la chambre. La quantité de liquide inoculé était de deux gouttes. Si les substances étaient lentes à se résorber (pétrole, térébenthine) on apercevait pendant plusieurs semaines les gouttes inoculées derrière la cornée. Pas d'accident inflammatoire, aucun signe d'irritation, si ce n'est une très petite formation de fibrine autour d'elles. Jamais nous n'avons vu se produire une vraie suppuration, et nos expériences ont été faites plus de quarante fois. Le chlorure de zinc, le nitrate d'argent et la glycérine produisaient une petite cautérisation de la cornée, mais jamais de suppuration.

L'inoculation du mercure a donné des résultats tout différents. Le mercure a une action très énergique sur l'œil. Il produit une suppuration considérable qui ressemble beaucoup à celle occasionnée par les microbes. Le produit de cette suppuration — le pus — est aussi *vrai* que le pus d'origine bactérienne. Si on inocule une très petite quantité (3 centigrammes environ) de mercure stérilisé à 160° dans la chambre antérieure de l'œil d'un lapin, on voit survenir dans les 24 heures qui suivent l'opération

un nuage jaune-gris de pus autour de la goutte de mercure. En même temps, la muqueuse conjonctivale devient un peu rouge et gonflée. Le pus continue à se former les jours suivants et il arrive quelquefois à remplir la moitié de la chambre antérieure, et même plus, tandis que la gouttelette de mercure reste toujours dans le fond de la chambre. Quand on ouvre l'œil après avoir sacrifié le lapin, on trouve dans la chambre antérieure une masse jaune, visqueuse, qui sous le microscope se montre composée de fibrine et de globules blancs. On n'y rencontre aucun microbe, ni en colorant le pus d'après les méthodes usuelles, ni en ensemençant le pus dans du bouillon nutritif ou sur la gélose.

L'ensemencement a été fait quelquefois le lendemain de l'introduction du mercure, à une époque où on ne pouvait pas, même en acceptant la théorie de la phagocytose, supposer faite l'absorption des microbes hypothétiques par les globules blancs. Il a été fait également trois ou quatre jours plus tard, pendant que la production du pus était en pleine activité.

Cette expérience, que j'ai renouvelée maintes fois toujours avec le même résultat, me paraît assez concluante pour démontrer la possibilité d'une formation de pus sans microbes; du reste, le développement très régulier de la suppuration autour du mercure, l'augmentation lente du pus, l'inflammation aiguë de la conjonctive, l'arrêt de la suppuration, qui devient stationnaire quand le mercure est tellement enveloppé de pus qu'il a perdu son action pyogénique, tout cela démontre assez nettement l'origine non bactérienne de cette suppuration.

Tandis que les expériences sur les lapins ont fourni des données qui — excepté pour le mercure — concordent avec la théorie généralement adoptée de l'origine bactérienne de la suppuration, les inoculations sur les chiens ont donné des résultats qui prouvent d'une manière évidente que la théorie n'est pas applicable dans sa généralité. Les chiens conviennent très bien à ce genre d'expériences. Le tissu sous-cutané est rapidement influencé par les substances irritantes et suppure avec une grande facilité. Les causes de ce phénomène nous échappent. Cette tendance à la suppuration est-elle due à ce que la résorption se fait plus difficilement dans le tissu sous-cutané du chien que dans celui du lapin, ce qui l'exposerait à une irritation plus longue, ou

faut-il faire intervenir d'autres éléments ? Pour résoudre cette question des recherches sont nécessaires. Pour le moment nous nous contentons d'un point qui est acquis au débat. Des substances qui ne produisent aucun effet appréciable chez le lapin, occasionnent chez le chien des suppurations considérables.

Nous avons réussi à produire des suppurations sans microbes chez le chien en inoculant les substances suivantes : le nitrate d'argent, l'essence de térébenthine et le mercure. Il ne serait probablement pas difficile d'augmenter la liste des substances pyogènes. Nous nous sommes bornés à ces trois, parce que c'est à l'occasion de ces trois substances que se sont élevées de nombreuses discussions, et parce que la pensée qui nous a guidé dans ces expériences était plutôt celle de démontrer l'origine chimique de la suppuration que de donner une énumération toujours incomplète des moyens avec lesquels elle peut se produire.

Les inoculations ont été faites en appliquant l'antisepsie la plus stricte. La seringue employée, contenant 1 centimètre cube, était stérilisée soigneusement, et l'aiguille placée dans l'eau phéniquée à 4 0/0 jusqu'au moment de son emploi. A l'endroit où devait être faite la piqûre, un peu à côté de l'épine dorsale, le chien était rasé sur une grande étendue, puis savonné et lavé à l'eau phéniquée à 4 0/0. Après l'injection, la plaie était cautérisée avec une baguette en verre rougie. Un pansement antiseptique était ensuite appliqué et fixé par des bandes amidonnées destinées à empêcher complètement le chien de gratter ou de déchirer le pansement. Au moment de l'examen du pus, le chien était fixé sur la table d'opération, et, le bandage ôté, l'abcès ouvert avec un bistouri flambé, le pus était aspiré dans des pipettes stérilisées et ensemencé dans de la gélose ou dans du bouillon de veau dont on avait auparavant éprouvé la valeur nutritive. Des échantillons du pus étaient étalés sur des lamelles pour être soumis à l'examen microscopique. On ne nous fera pas le reproche d'avoir omis une seule précaution pour que l'opération fût complètement antiseptique. D'autre part, si les microbes avaient existé dans le pus, ils n'auraient pas pu échapper à notre attention, attendu qu'ils auraient été susceptibles d'être colorés et cultivés d'après les procédés usuels.

Nous nous sommes convaincu de la manière suivante de la stérilisation complète de la seringue employée. Après l'avoir net-

toyée et stérilisée comme s'il s'agissait d'une inoculation sous-cutanée, on la remplissait avec de l'eau stérilisée. Cette eau était ensuiteensemencée à l'aide de la seringue dans du bouillon. Cette expérience a été renouvelée 25 fois. Dans aucun cas le bouillon ne s'est troublé. Nous avons donc le droit de supposer suffisant le procédé de stérilisation de la seringue.

Le nitrate d'argent et l'essence de térébenthine ont été portés à l'ébullition, et le mercure chauffé à 160°, avant leur emploi. Toutes les règles de l'antisepsie ont donc été strictement appliquées.

Dès lors, il nous semble difficile de ne pas admettre les conséquences qui découlent forcément de nos essais. Elles se montrent avec une évidence incontestable. Puisque l'inoculation a été suivie d'une suppuration abondante, celle-ci ne peut avoir été produite que par l'action des substances inoculées dans le tissu sous-cutané.

Les phénomènes qui ont suivi l'injection ont été à peu près les mêmes pour l'essence de térébenthine et le nitrate d'argent. L'effet du mercure a été un peu différent, eu égard à la rapidité avec laquelle la suppuration est survenue. 24 heures après l'injection d'un demi-centimètre cube d'essence de térébenthine pure ou d'une dose égale d'une solution à 10 % de nitrate d'argent dans le tissu sous-cutané d'un jeune chien, il s'est formé à l'endroit de l'inoculation une tumeur molle de la grandeur d'une pièce de dix centimes. La peau était un peu plus rouge et plus chaude qu'à l'état normal. En incisant la tumeur à cette époque, on voit qu'elle est constituée par du tissu œdémateux contenant beaucoup de sérosité et de nombreux globules blancs, mais on n'y trouve pas du vrai pus. Dans les injections faites avec de la térébenthine, on constatait la présence de gouttes nombreuses de cette substance dans le liquide, qui en conservait l'odeur caractéristique.

En faisant l'incision 48 heures après l'injection, on trouve du vrai pus en abondance dans l'abcès.

La quantité de pus augmente encore les 24 heures suivantes, et celui-ci se montre absolument dépourvu de microbes, aussi bien par l'épreuve sous le microscope que dans le bouillon nutritif.

L'injection du mercure produit une suppuration qui se développe un peu plus lentement. La quantité injectée a été de

0^{cc}, 2. 48 heures après, il se forme une infiltration de la grandeur d'une pièce d'un franc. Elle contient déjà du pus en petite quantité, mais ce n'est qu'après quatre ou cinq jours qu'on trouve la tumeur transformée en un véritable abcès qui contient du pus jaune en quantité considérable. Ajoutons que le pus ensemencé dans du bouillon se montre stérile.

En faisant agir sur les tissus des substances irritantes, on peut donc produire une suppuration sans microbes, et non seulement de petites infiltrations de pus, mais de vrais abcès aigus, difficiles à distinguer de ceux occasionnés par les ferments. Tout nous porte donc à croire que les microbes produisent la suppuration en amenant des altérations chimiques sous l'influence directe ou indirecte de certaines substances qu'ils engendrent.

Les expériences qui tendent à prouver ce fait sont loin d'être terminées, et je n'en dirai pour aujourd'hui qu'un mot, mais elles ont déjà donné des résultats suffisants pour démontrer l'existence dans les bouillons de culture du *Staphylococcus aureus* d'une substance pyogénique. Les faits observés sont les suivants. Une culture dans du bouillon de veau du *Staph. aureus*, chauffée à 100°, température qui tue sûrement ce microbe, peut produire un abcès sous-cutané chez le chien. Injectée dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, elle produit l'œdème de la conjonctive, la décoloration de l'iris et la formation de pus dans la chambre antérieure. L'inflammation disparaît assez vite, et une fois guérie ne laisse aucune trace dans le tissu de l'œil. La stérilité de la culture chauffée a été démontrée par l'ensemencement négatif dans du bouillon, la stérilité du pus par l'inoculation dans l'œil d'un autre lapin. Le pus inoculé a été résorbé sans donner lieu à aucune inflammation.

Le chauffage de la culture dans l'autoclave à 120° détruit tout à fait les facultés pyogènes du microbe.

En filtrant la culture dans le bouillon à travers le filtre Pasteur, on obtient un liquide qui produit un œdème de la conjonctive et une suppuration légère dans la chambre antérieure de l'œil du lapin.

En précipitant le liquide filtré avec de l'alcool, il se forme un précipité assez abondant de substances albumineuses. Après filtration et lavage avec de l'alcool, une solution dans de l'eau stérilisée de ce précipité produit les mêmes effets que la culture

filtrée : œdème de la conjonctive, décoloration de l'iris, suppuration légère dans la chambre antérieure de l'œil du lapin. Cette substance, qui est probablement une diastase ressemblant à la substance pyogène que M. Arloing¹ vient de trouver dans des cultures du microbe de la péripneumonie contagieuse, est tout à fait différente de la substance cristalline que M. Leber² dit avoir extraite des cultures du *Staphyl. aureus* au moyen de l'alcool, et avec laquelle il a produit une inflammation dans l'œil du lapin.

Si la découverte de M. Leber se confirme, il y aura donc lieu de supposer que le microbe de la suppuration peut produire plusieurs substances pyogènes, et que c'est par leur intermédiaire qu'il agit sur les tissus en produisant la suppuration.

La suppuration doit donc être considérée comme l'effet d'une réaction des tissus contre certains substances chimiques, qu'elles soient produites par des êtres vivants ou de nature purement chimique.

Nous ne voulons pas terminer ce travail sans adresser à MM. Cornil et Duclaux nos remerciements pour l'extrême bienveillance avec laquelle ils nous ont admis dans leurs laboratoires.

1. Voy. les deux communications intéressantes de M. Arloing dans les Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1888, nos 49 et 25.

2. *Fortschritte der Medicin*, vol. VI, 15 juin 1888.

NOTES DE LABORATOIRE SUR L'IMMUNITÉ CONFÉRÉE AUX CHIENS CONTRE LA RAGE, PAR INJECTIONS INTRA-VEINEUSES,

Par E. ROUX.

Dans un mémoire paru récemment, M. Protopopoff ¹ a fait connaître qu'il était possible de vacciner rapidement des chiens contre la rage, en leur injectant dans les veines des émulsions de moelles rabiques de virulence graduée. Ainsi quatre chiens qui ont reçu dans les veines, à 3 jours d'intervalle, un centimètre cube d'émulsion des moelles de 6, de 3 et de 1 jour, ont résisté ensuite à l'introduction du virus fixe dans le sang et enfin à la trépanation. Ces expériences de M. Protopopoff nous rappellent des essais déjà anciens, qui prouvent qu'il est possible de rendre des chiens réfractaires à la rage par une seule injection intra-veineuse de virus rabique affaibli, à la condition d'en injecter des quantités suffisantes.

EXPÉRIENCES. — Le 22 décembre 1886, un chien neuf reçoit dans la veine du jarret droit 35^{cc} d'une émulsion très fine, préparée avec une moelle entière de lapin de passage desséchée depuis 5 jours à 23°. Ce chien reste bien portant les jours suivants. Le 5 février 1887, il est inoculé, par trépanation, avec du virus de rage des rues; il est pris de rage le 15 mars (38 jours après la trépanation).

Le 21 décembre 1886, un chien neuf reçoit dans la veine du jarret droit 35^{cc} d'une émulsion préparée avec une moelle entière desséchée depuis 6 jours. En même temps, un lapin est inoculé, par trépanation, avec la même émulsion. Le chien et le lapin sont restés bien portants. Le 4^{er} février 1887, le chien est inoculé par trépanation, avec du virus de rage des rues. Il n'éprouve aucun effet et est encore bien portant un an après.

Le 23 décembre 1886, un chien neuf reçoit, dans les mêmes conditions que les précédentes, 35^{cc} d'émulsion préparée avec une moelle entière âgée de 7 jours. Un lapin est inoculé, sous la dure-mère, avec la même émulsion. Le lapin ne prend pas la rage, mais le chien est pris de rage paralytique le 25 janvier (33 jours après l'injection intra-veineuse).

1. *Centralbl. f., Bakt.* t. IV, p. 85, 1888. Voir ces *Annales*, n° 8, 1888.

Le 24 décembre 1886, un chien neuf reçoit dans les veines 35^{cc} d'émulsion préparée avec une moelle de 8 jours. Un lapin est inoculé, par trépanation, avec la même moelle. Le 22 janvier (29 jours après), le lapin est pris de rage. Le 18 avril 1887, le chien est trépané et inoculé avec du virus de rage des rues. Il reste bien portant et est sacrifié plus d'un an après.

Le 29 décembre 1886, un chien neuf reçoit dans les veines 35^{cc} d'émulsion de moelle de 9 jours. Un lapin est inoculé sous la dure-mère avec la même émulsion. Ce lapin n'a pas pris la rage. Le 18 avril, le chien est inoculé dans la cavité arachnoïdienne avec du virus de rage des rues. Il prend la rage mue le 2 mai 1887 (15 jours après la trépanation).

Le 30 décembre 1886, un chien neuf reçoit dans les veines 35^{cc} d'émulsion de moelle de 10 jours. Un lapin est inoculé, par trépanation, avec la même moelle; il reste bien portant. Le 28 mars 1887, le chien est inoculé sous la dure-mère par le virus de rage des rues. Il est pris de rage mue le 9 avril (12 jours après la trépanation).

Le 30 décembre 1886, un chien neuf reçoit dans les veines 35^{cc} d'émulsion de moelle de 11 jours. Un lapin est inoculé sous la dure-mère, par la même émulsion; ce lapin n'a pas pris la rage. Le 4^{er} février 1887, le chien est inoculé, dans la cavité arachnoïdienne, avec du virus des rues. Il est bien portant plus d'un an après, époque à laquelle il est sacrifié.

Le 31 décembre 1886, un chien neuf reçoit dans les veines 35^{cc} d'émulsion de moelle de 12 jours. Un lapin est inoculé par trépanation avec la même émulsion, il est pris de rage le 12 janvier 1887, et le chien est également devenu enragé le 17 janvier.

Le poids de moelle desséchée employée pour faire les émulsions qui ont servi dans ces expériences était de cinquante centigrammes environ.

Ces expériences montrent qu'il est possible de rendre rapidement des chiens réfractaires à la rage, par une seule injection intra-veineuse de moelles rabiques dont la virulence est très faible, comme celles de 8 et de 11 jours¹. Cependant, le résultat n'est pas constant, et si parfois l'immunité est acquise après une seule injection de moelle de 11 jours, on voit que des injections de moelles plus fortes, faites aux mêmes doses, ne vaccinent pas à coup sûr. Ces irrégularités disparaîtraient, sans doute, si l'on employait des doses plus faibles et si l'on faisait 3 ou 4 injections successives d'émulsions de virulence graduées. C'est ce qu'a fait M. Protopopoff.

On peut aussi tirer d'autres enseignements des expériences

1. Voir, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, p. 9, les expériences de M. Bardach sur la vaccination des chiens par injection de moelles faibles sous la peau.

qui précèdent; à savoir: que la virulence des moelles ne correspond pas toujours à leur âge. Nous avons vu, en effet, que des moelles de 12 jours et de 7 jours ont donné la rage quand on les a injectées à grandes doses dans les veines des chiens, tandis que les moelles de 5, de 6, de 8 jours se sont montrées inoffensives. On conçoit, en effet, que pendant la dessiccation le virus rabique n'est pas atteint en même temps dans tous les points de la moelle; des îlots peuvent rester vivants et virulents dans le centre quand déjà tout le reste aura été modifié. On pourra donc trouver dans les moelles des portions notables de substance dépourvues de virus vivant. C'est une des raisons pour lesquelles, dans la pratique, on multiplie les injections pour donner sûrement l'immunité.

Dans les expériences que nous venons de rapporter, comment l'immunité a-t-elle été donnée aux animaux qui ont reçu des doses considérables d'émulsion de moelles de 11 jours et de 8 jours? Est-ce par l'action de la substance chimique qui, d'après M. Pasteur, accompagne le virus rabique? est-ce par celle du virus resté actif dans les moelles injectées? Les moelles, qui ont donné l'immunité aux chiens, n'ont pas causé la rage chez les lapins auxquels elles ont été inoculées sous la dure-mère. Il semble donc qu'elles ne renfermaient pas de virus actif. Mais cette épreuve de la virulence des moelles est tout à fait insuffisante. Nous avons vu, en effet, qu'une émulsion de moelle de 7 jours, injectée dans la cavité arachnoïdienne des lapins, ne leur a pas donné la rage, tandis que la même émulsion injectée à fortes doses dans les veines d'un chien l'a rendu enragé. L'injection sous la dure-mère ne permet d'introduire que très peu de matière, dépourvue peut-être de virus vivant, tandis qu'une parcelle de substance nerveuse prise à côté en contient au contraire une quantité notable. Il faudrait pouvoir inoculer, par trépanation, des doses égales à celles que l'on fait pénétrer sous la peau ou dans les veines. L'action de la substance vaccinale non vivante ne peut être mise en évidence qu'en soumettant les moelles rabiques à des actions qui tuent sûrement le virus: le point délicat est de trouver des moyens de faire périr celui-ci sans que celle-làsoit détruite en même temps ¹.

1. Voir les expériences de M. Pasteur sur ce sujet, Comptes rendus Acad. des sc., août 1888.

VIBRIO METSCHNIKOWI (N. SP.)

ET SES RAPPORTS AVEC LE MICROBE DU CHOLÉRA ASIATIQUE,

PAR M. N. GAMALÉIA.

En étudiant l'état sanitaire du marché aux oiseaux d'Odessa, nous avons découvert une nouvelle maladie infectieuse des poules qui présente, sous plusieurs rapports, un intérêt particulier.

Cette maladie est plus fréquente chez nous pendant l'été que le choléra des poules (*septicémie des oiseaux*) et ses cas paraissent se multiplier à mesure qu'augmente la chaleur de l'air et plus particulièrement du sol. Ce sont les jeunes individus qui sont principalement frappés de cette maladie; cependant nous l'avons rencontrée aussi chez les poules adultes.

Par ses symptômes extérieurs, cette maladie, que nous proposons d'appeler la *gastroentérite cholérique des oiseaux* (*gastroenteritis cholERICA*), ne diffère pas beaucoup de la septicémie (*choléra des poules*). Les oiseaux malades sont immobiles et comme endormis, avec le plumage hérissé; ils ont la diarrhée. Cependant, la maladie confirmée a une durée plus longue que la septicémie; les poules adultes peuvent rester dans cet état de sommeil jusqu'à 48 heures et davantage. Une différence clinique très nette entre ces deux maladies est donnée par la marche de la température: tandis que le choléra des poules présente jusqu'à la mort une fièvre intense (43-44°), notre maladie nouvelle est caractérisée par une température voisine de la normale (41-38°).

À l'autopsie, le phénomène le plus constant est une hyperémie de tout le canal digestif, depuis le gosier, qui est rempli d'un liquide séreux. Les intestins grêles contiennent un liquide abondant, d'une couleur gris jaunâtre, avec une quantité plus ou moins grande de sang. Les autres organes ont l'aspect normal. Très intéressante, comme signe différentiel avec la septicémie, est l'absence complète de l'hyperémie de la rate, qui reste toujours petite et pâle.

L'examen microscopique ne révèle ordinairement rien dans le sang. Du reste, le sang des oiseaux adultes est stérile et non

infectieux. Mais, chez les poulets, on peut expérimentalement constater la présence de bactéries spécifiques dans le sang. Les pigeons, notamment, inoculés par une grande quantité de ce sang (2 à 4^{cc} d'une émulsion assez dense) périssent en 12 ou 20 heures. Chez ces pigeons on retrouve à l'autopsie les mêmes lésions que ci-dessus : rate exsangue, intestins remplis d'un contenu séro-purulent, coloré par du sang. Dans le sang du cœur, on trouve ordinairement, en quantité énorme, des bactéries caractéristiques qui ont l'aspect du bacille-virgule de Koch. Les mêmes bactéries se retrouvent mêlées à d'autres dans le contenu du gosier et dans les intestins des pigeons et des poules qui sont mortes de la gastroentérite cholérique. Le sang des pigeons les contient à l'état de pureté et en donne immédiatement des cultures pures.

Les virgules que nous décrivons ont ordinairement dans le sang des pigeons la forme de bacilles larges, courts et courbés, avec les bouts arrondis. Elles se trouvent parfois réunies en spirales avec 5-10 tours plus ou moins rapprochés. Quelquefois on rencontre des spirales doubles contournées à la façon d'une corde lâchement enroulée sur elle-même. Leur grandeur n'est pas constante : dans le sang d'un pigeon elles n'ont que le diamètre ordinaire des virgules cholériques de Koch, tandis que chez le pigeon du passage suivant elles deviennent deux fois plus fortes. Ces bactéries se laissent facilement cultiver dans les milieux nutritifs ordinaires.

Dans le bouillon de veau légèrement alcalin (avec ou sans peptone), elles se multiplient très vite, et, 6-7 heures après l'ensemencement, on peut déjà voir à l'œil nu un trouble uniforme qui se résout en ondes soyeuses quand on agite. Le lendemain la surface du liquide se couvre d'un mince voile blanc. Ce voile reste mince et fragile les jours suivants, où il se forme au-dessous de lui une couche dense opaque et grise. L'examen microscopique révèle dans ces cultures l'existence des mêmes bactéries recourbées, qui se réunissent parfois en spirales très longues. En gouttes pendantes, on constate que les bactéries vivantes sont douées d'un rapide mouvement spontané. Ces cultures, dans le bouillon ordinaire, n'ont aucune odeur prononcée.

La réaction avec l'acide sulfurique donne une coloration oran-

gée à la culture de ces bactéries, faite dans le bouillon peptonisé.

Après une piqûre dans la gélatine nutritive (à 5 0/0), nos bactéries se développent assez lentement. Le 2^e ou le 3^e jour, on y voit une bulle de gaz qui devient plus grande les jours suivants, et qui se prolonge en bas par un cylindre de gélatine liquéfiée, dont l'axe central est occupé par une bandelette blanche contournée en spirale. Plus tard la bulle disparaît en s'ouvrant de plus en plus au sommet, le cylindre liquéfié s'élargit pour occuper toute la largeur de l'éprouvette; il se termine en bas par une surface horizontale, et son fond est occupé par des masses granuleuses et blanches. Dans les cultures sur plaques de gélatine, on trouve le 3^e jour un aspect typique et saisissable à l'œil nu. Les colonies isolées ont la forme d'une rondelle liquéfiée transparente, munie d'un point blanc au centre. Examinées au microscope, ces colonies se divisent en trois zones, dont l'extérieure, figurée par la gélatine liquéfiée, est très pâle avec une structure homogène, l'intermédiaire a des contours ondulés et un aspect granuleux, tandis que le centre est brun et opaque.

Les cultures sur la gélose prennent souvent un aspect caractéristique : elles sont composées de couches blanches, plus fortes au centre, où elles prennent une teinte jaunâtre et où elles se couvrent d'un voile brillant.

Sur les pommes de terre, nos bactéries croissent, au-dessus de 25°, en masses d'une couleur brune pâle (café au lait), plus foncée (couleur de bière brune) au centre.

Les bactéries se développent très bien dans le lait. Celui-ci ne change pas d'aspect les premiers jours, mais une semaine environ plus tard il est coagulé (à 35°) : la caséine se précipite au fond en masses irrégulières qui ne se redissolvent plus. Le lait acquiert en même temps une forte réaction acide et les bactéries y périssent dans un temps assez court.

Les cultures dans les œufs sont typiques. Dix jours après l'ensemencement, on trouve, en brisant la coque, que le blanc d'œuf est tout à fait dissous et transformé en un liquide jaunâtre et louche, tandis que le jaune, qui conserve sa forme et sa consistance, est devenu d'un noir parfait. Nos bactéries sont très sensibles à l'action des températures élevées. Chauffées 5 minutes à 50°, elles sont tuées. Une et deux minutes à 50° les laissent absolument vivantes, de même que dix minutes à 45°.

Dans quelques conditions spéciales, nos bactéries forment de véritables germes (endospores) caractérisés par la double coloration. Mais nous remettons à une autre fois l'exposition plus complète de ce fait.

Caractérisées de cette manière, nos bactéries seplacent par leur mode de sporulation dans le genre *Vibrio*. Par conséquent, nous proposons de les appeler, *Vibrio Metschnikovi*, pour les distinguer des vibrions semblables (*vibrio cholerae asiaticae*, Finkler et Prior, Denecke).

Il est incontestable que les vibrions de Metschnikoff constituent la cause unique de la gastroentérite cholérique. Ils sont, d'après nos expériences, pathogènes pour les pigeons, les poules et les cobayes.

Les pigeons sont très susceptibles à l'action de nos bactéries. Quelques gouttes de la culture, inoculées sous la peau ou dans les muscles, suffisent pour les tuer en 8 à 12 heures. Il faut, pourtant, remarquer que les bactéries retirées du corps des poulets n'ont pas toujours cette virulence extrême, qu'elles acquièrent dans tous les cas par le passage successif à travers les pigeons.

Ainsi, par exemple, le 20 juin, le sang d'un pigeon (deuxième passage après un poulet) est inoculé, en quantité de 1^{cc}, à deux pigeons. Un seul de ceux-ci est mort, tandis que l'autre se rétablit et devint réfractaire au virus virulent. Le 9 juillet, les mêmes bactéries, après des passages quotidiens par les pigeons, sont devenues absolument mortelles pour ces derniers à la dose de un huitième de centimètre cube.

Avec cette virulence croissante, survient un changement intéressant dans le contenu de l'intestin enflammé des pigeons qui ont succombé. Ce contenu consiste toujours en un liquide rosé avec de petits flocons gris. Mais avec le virus faible, ces flocons, à l'examen microscopique, se composent principalement de leucocytes, tandis qu'avec le virus le plus virulent, on ne trouve dans ces flocons que des cellules épithéliales exfoliées.

Nos bactéries n'ont aucune action sur les pigeons, si elles leur sont données à manger même en quantités très grandes. Les poulets, au contraire, qui sont plus réfractaires au vibron de Metschnikoff, qui exigent des doses beaucoup plus fortes pour être tués par l'inoculation sous-cutanée ou intra-musculaire, succombent facilement à l'infection par la nourriture.

Ainsi, le 27 juillet, un poulet a bu du sang d'un pigeon, mort de gastro-entérite cholérique (deuxième passage d'un poulet qui a succombé à la maladie spontanée). Ce poulet meurt dans la nuit du 29 au 30 juillet. Les intestins sont très hyperémiés et remplis d'un liquide contenant des flocons gris. Dans son sang on trouve et on isole en cultures les vibrions de Metschnikoff. Évidemment, ce poulet s'est infecté par les voies digestives. Je ne veux pourtant rien préjuger sur le mode d'infection *naturelle* qui fait l'objet de nos recherches actuelles.

Les lapins et les spermophiles sont très réfractaires à nos bactéries, quoiqu'ils puissent être tués par de fortes quantités.

Les cobayes, au contraire, sont des plus susceptibles. Ils ne résistent à aucun mode d'inoculation virulente, et succombent aussi par suite de l'infection par l'estomac. Il n'est même pas nécessaire, pour cela, de neutraliser le suc gastrique par la soude, ou d'employer pour l'intoxication de l'animal la teinture d'opium, etc. ; il suffit tout simplement de faire avaler au cobaye quelques centimètres cubes d'une culture virulente. Ainsi, le 13 août, deux cobayes ont avalé 4 centimètres cubes d'une culture dans du bouillon datant du 11 août. Le lendemain, tous les deux étaient morts. A l'autopsie, ils ont présenté des rates anémiques ; les intestins étaient remplis d'un liquide contenant des flocons d'épithélium exfolié. Un d'eux avait en outre une exsudation pleurétique séreuse. Les vibrions ont été trouvés dans le sang du cœur et dans le liquide intestinal.

En résumant, on peut conclure, au sujet de l'action pathogène de nos microbes, qu'ils ont une prédilection pour la localisation dans le canal intestinal, où ils produisent la desquamation de l'épithélium ; que cette localisation se fait aussi après l'inoculation sous-cutanée, intramusculaire ou intrapéritonéale ; que les animaux résistants ne sont tués que par la multiplication locale des microbes, probablement par suite des ptomaïnes qu'ils forment ; que chez les animaux susceptibles (poulets, pigeons, cobayes), les microbes passent dans le sang en y acquérant une augmentation de leur virulence.

Maintenant, si on compare toutes les connaissances que nous avons acquises jusqu'ici sur les propriétés de nos microbes, aux faits bien établis qui concernent le microbe du choléra asiatique

de Koch, on est frappé de la grande ressemblance de ces deux formes. Même aspect morphologique, aucune différence sérieuse dans les cultures, mêmes propriétés pathogènes.

Conduits par ces analogies, nous avons recherché s'il n'existe pas entre ces deux formes une parenté plus étroite. En effet, nous avons trouvé qu'on peut vacciner pour l'une des maladies avec le microbe spécifique de l'autre.

Ainsi, le pigeon réfractaire aux vibrions de Metschnikoff, dont nous avons parlé plus haut, s'est montré indemne aussi par rapport au virus du choléra asiatique.

D'un autre côté, tous les pigeons que nous avons vaccinés contre le choléra, sont devenus en même temps réfractaires à nos vibrions. Voici une expérience qui le prouve.

Le 26 août, dix pigeons vaccinés contre le choléra¹ sont inoculés, avec un pigeon de contrôle, par un quart de centimètre cube d'une émulsion faite avec du sang de pigeon mort de gastroentérite. Le pigeon témoin est mort le même jour. Deux pigeons vaccinés ont succombé pendant la nuit. Les huit autres sont restés complètement bien portants. Ainsi, nous devons conclure que nos microbes sont très étroitement liés aux vibrions du choléra asiatique. Nous ne pouvons imaginer d'explication plus naturelle de toutes leurs propriétés communes que celle qui les considérerait comme deux variétés physiologiques du même microbe². L'une, plus particulière à l'homme, ne se produirait que dans l'Inde, grâce peut-être au passage par quelque animal indigène; l'autre existerait dans les pays européens.

D'un autre côté, il est possible que nos microbes soient liés aux maladies humaines telles que le choléra nostras et la diarrhée estivale des enfants. Voici un fait qui parle décidément en faveur de cette connexité.

Le 16 août, M. le Dr Silouianoff a eu l'obligeance de nous remettre les déjections d'un homme malade du choléra européen. Les déjections consistaient en un liquide grisâtre rempli de flocons riziformes, formés par les épithéliums exfoliés. Nous avons nourri avec ce liquide un petit poulet tout jeune, qui a

1. Voir Comptes rendus de l'Académie des sciences, 20 août 1888.

2. Le vibron du choléra asiatique se distinguerait, par exemple, par sa faculté plus grande de former les spores.

succombé trois jours plus tard, le 20 août, avec tous les symptômes de la gastro-entérite cholérique. Dans son gosier, dans son intestin, ainsi que dans son sang, ont été trouvés les vibrions caractéristiques de cette maladie. Ces vibrions pourtant n'avaient qu'une virulence très faible, puisque le sang du poulet, inoculé dans les muscles pectoraux d'un pigeon et dans le péritoine d'un cobaye, ne leur a donné qu'un malaise passager (chez le cobaye la température tomba jusqu'à 33 degrés); mais ce malaise a été suivi d'une *immunité complète* vis-à-vis du virus virulent emprunté à du sang de pigeon de passage le 25 août.

Ce fait positif aurait, d'après nous, beaucoup plus de valeur que les résultats négatifs des recherches de MM. Koch et Franck, qui n'ont trouvé aucun organisme spécifique dans plusieurs cas du choléra européen. Et cela pour deux raisons principales :

1° Tous ces auteurs se sont servis pour la recherche de la méthode des cultures, qui est incontestablement inférieure à la méthode par infection quand il s'agit de déceler un organisme pathogène perdu entre les bactéries banales. Nous avons déjà prouvé cette infériorité pour plusieurs maladies, comme la pneumonie fibrineuse, le choléra des poules, le charbon ¹.

Or, nous avons toute raison de croire qu'en utilisant notre méthode expérimentale de l'infection d'un jeune poulet, on arriverait à de meilleurs résultats.

2° Nous avons aussi montré, dans notre article sur la pneumonie, que les microbes pathogènes, après avoir produit la lésion spécifique, peuvent disparaître pour être remplacés par des bactéries saprophytiques banales. Pour le choléra européen, qui est une maladie bénigne, cette disparition des vibrions pathogènes est bien probable, vu l'émigration leucocytaire formidable que nous avons constatée dans le canal intestinal après l'infection des pigeons et des cobayes par des vibrions de Metschnikoff peu virulents.

Ces deux ordres de considérations nous forcent à conclure que toute l'étiologie du choléra nostras est à refaire d'après nos données expérimentales.

1. Voir nos articles sur l'étiologie de la pneumonie fibrineuse chez l'homme (les *Annales*, n° 8) et sur l'étiologie du choléra des poules (*Centralblatt f. bacteriologie*, t. IV, n° 6.)

SUR LA RECHERCHE DES ALCOOLS DE DEGRÉ SUPÉRIEUR

PAR M. E. DUCLAUX.

La découverte dans un liquide des alcools de degré supérieur mélangés en faible quantité à l'alcool ordinaire est un problème plein d'intérêt. Au point de vue de l'hygiène, sa solution permettrait de n'admettre dans la consommation que des alcools purs, ou du moins à peu près purs, car toutes les fermentations industrielles, même celles qui fournissent les vins les plus délicats, n'étant jamais, au sens absolu du mot, des fermentations pures, laissent presque toujours, sinon toujours, dans les liquides qu'elles ont produits, des traces d'alcools supérieurs. On n'a donc pas le droit de considérer comme synonymes les mots alcool pur et alcool de vin, et comme l'usage, modéré ou abusif, de cette boisson n'a jamais donné lieu aux plaintes dont on poursuit la consommation modérée ou abusive des eaux-de-vie de mauvaise qualité, il faut en conclure que l'organisme humain peut très bien s'accommoder de l'absorption, en quantités très faibles, d'alcools toxiques, et que la seule chose qu'il redoute, c'est l'excès de ces substances, soit qu'il y en ait trop dans le liquide ingéré, soit que ce liquide soit ingéré en quantités trop grandes. Dans les deux cas, on diminuerait évidemment beaucoup le mal possible si seulement on arrivait à mettre facilement en évidence, je ne dis pas à doser cet excès d'alcools dangereux.

Au point de vue de la microbiologie, la question a aussi de plus l'importance. Plus nous pénétrons dans l'étude des microbes, elle se complique, plus nous sommes conduits à distinguer des genres et des espèces qu'on confondait autrefois. A cela, la morphologie ne suffit plus, pas même celle des cultures sur milieux divers, pourtant plus variée que la morphologie du microbe, pas même la culture sur des milieux vivants. Il faut de toute nécessité en arriver à l'étude de la biologie du microbe,

et en particulier à celle de ses aliments nutritifs et des transformations qu'il leur fait subir.

Pour toutes les cellules qui produisent de l'alcool, et on sait si elles sont nombreuses, il est du plus haut intérêt, au point de vue de la classification, de savoir si cet alcool est pur ou mélangé d'alcools supérieurs, parmi lesquels dominent presque toujours les alcools butylique et amylique. Je décrirai pourtant bientôt une bactérie qui donne de l'alcool propylique, mais, lorsque cet alcool se forme, il est en général produit en quantités assez grandes, parce qu'il n'est pas toxique au degré des autres. L'être qui le produit peut donc en faire beaucoup ; il n'en est pas de même pour les alcools butylique et amylique, beaucoup plus redoutables pour les cellules vivantes, même pour celles des microbes, et qui dès lors ne peuvent d'ordinaire être produits qu'en faible quantité ; c'est leur rareté qui rend leur recherche difficile ; c'est leur nature qui rend cette recherche importante, et leur rareté dépend de leur nature.

Dans mes *Études sur les vins*, publiées en 1874 dans les *Annales de Chimie et de Physique*, j'ai donné une méthode capable de déceler le mélange à l'alcool ordinaire de faibles quantités d'alcools supérieurs. Cette méthode consiste à comparer le titre alcoolique du liquide, mesuré par le flacon à densité, avec le nombre de gouttes fourni par l'écoulement d'un volume déterminé du liquide, mesuré dans un compte-gouttes convenablement gradué. Si l'alcool est pur, il y a une corrélation constante, fournie par mes tables, entre le nombre de gouttes et la densité. La présence d'une faible quantité d'alcools supérieurs ne change rien à la densité, ces alcools ayant à peu près celle de l'alcool ordinaire, mais elle diminue beaucoup la constante capillaire, la *tension superficielle* de l'alcool étudié, et augmente par là le nombre de gouttes qu'il peut fournir sous un volume donné. L'écart avec le nombre de gouttes correspondant à la même densité pour l'alcool vinique est donc d'autant plus grand que la quantité d'alcools supérieurs mélangés est plus considérable, et cet écart peut servir à se faire une idée, en général suffisante dans la pratique, de leur proportion par rapport à l'alcool ordinaire.

Toutefois, comme cette proportion est toujours très faible, il restait à chercher dans quelles conditions ce procédé a son

maximum de sensibilité. Faut-il, par des distillations successives, concentrer sous le plus petit volume possible l'alcool à étudier, ou faut-il le diluer beaucoup ? Dans ce dernier cas, on s'expose, en étendant outre mesure les alcools formant impureté, à rendre leur effet insensible ou nul. Si on concentre beaucoup, on risque d'arriver au même résultat, parce que tous les alcools, à l'état concentré, donnent à peu près le même nombre de gouttes, et qu'il n'y a plus rien alors pour traduire l'effet de leur mélange. Il faut donc opérer sur des mélanges dilués, mais à quel degré ? c'est-ce que l'expérience seule pouvait dire.

Pour le savoir, j'ai mélangé 10 parties d'alcool amylique avec 90 d'alcool ordinaire très pur, titrant 92°, et obtenu par une fermentation pure de sucre avec de la levure de vin de Champagne. L'alcool amylique venait du commerce, mais il avait été très soigneusement rectifié dans un appareil Henninger à 5 boules, et bouillait à 129°-130°, 5. J'ai fait avec le tout un mélange à 92°, que j'ai étudié au densimètre et au compte-gouttes, et que j'ai ensuite étendu avec des quantités d'eau régulièrement croissantes, de façon à obtenir des mélanges à divers titres que j'ai étudiés comme le premier. Le tableau suivant donne pour chacun d'eux, sa densité à 15°, D ; son titre alcoolique correspondant A, calculé d'après les tables de Gay-Lussac comme si c'était de l'alcool pur, et enfin, en d, la différence à 15° entre le nombre de gouttes qu'il fournit et celui de l'alcool pur au même degré, pour le compte-gouttes ordinaire, dans lequel 5^{cc} d'eau à 15° donnent exactement 100 gouttes.

	D	A	d
1	0,8270	92	0
2	0,9403	46,8	32
3	0,9583	35,8	39,5
4	0,9692	26,5	69
5	0,9762	20	71
6	0,9811	15	51
7	0,9853	11	44
8	0,9914	6	33
9	0,9957	3	2

La différence est nulle, comme nous l'avions prévu, pour des alcools concentrés, et très faible pour des alcools étendus. Elle est pourtant encore appréciable pour un liquide, le dernier,

qui ne contient que 3 p. 1.000 d'alcool amylique. Elle est au maximum pour les alcools voisins de 25°, pour lesquels l'augmentation est telle que le nombre des gouttes se trouve accru, en moyenne, dans le rapport de 4 à 3.

Cette augmentation persiste-t-elle, et dans quelles proportions, quand on diminue la dose initiale d'alcool amylique ? Pour le savoir, j'ai fait, dans les mêmes conditions et avec les mêmes matériaux que précédemment, une solution initiale à 2 d'alcool amylique pour 98 d'alcool ordinaire. Son étude et celle de ses dilutions se trouvent résumées dans le tableau suivant, construit comme celui qui précède.

	D	A	d
1	0,8274	92	0
2	0,9408	46,7	40
3	0,9574	36,3	46
4	0,9694	26,7	47
5	0,9759	20,2	48
6	0,9811	15	47
7	0,9846	12	44
8	0,9914	6	8

Les différences persistent et sont même proportionnellement plus fortes que tout à l'heure, si bien qu'elles permettent d'évaluer $\frac{1}{300}$ environ d'alcool amylique dans l'alcool ordinaire. On voit en outre que c'est encore au voisinage de 20°-25°, qu'elles présentent leur maximum.

Il restait à faire les mêmes essais pour l'alcool butylique. Je me suis servi d'un alcool purifié à l'appareil à boules, bouillant à la température normale, et j'en ai fait une solution à 10 p. 100 dans l'alcool ordinaire. L'étude de cette solution initiale et de ses dilutions m'a donné les résultats suivants :

	D	A	d
1	0,8269	92	0
2	0,9407	46,5	21
3	0,9572	35	33
4	0,9696	26,2	38
5	0,9764	19,6	27
6	0,9828	13,3	26
7	0,9850	11	22

C'est encore au voisinage de 25° qu'a lieu le maximum, de sorte qu'on peut tirer des tableaux qui précèdent une conclusion

commune à l'alcool butylique et à l'alcool amylique, c'est que pour déceler leur mélange possible avec l'alcool ordinaire, il faut amener le titre à 25° environ, pour faire l'étude au compte-gouttes. Comme le volume sur lequel on opère n'est que de 5^{cc}, on n'a besoin, pour une expérience, que de 1^{cc},5 environ du mélange d'alcools, pris à l'état concentré, et on peut y déceler la présence d'environ deux millièmes d'alcool amylique et cinq millièmes d'alcool butylique.

J'ai souvent appliqué cette méthode à l'étude de l'alcool produit par divers microbes, et je reviendrai sur les résultats qu'elle m'a fournis. Je me borne pour aujourd'hui à ceux de l'étude de deux alcools commerciaux, une eau-de-vie provenant de la fermentation de mélasses de sucre de canne, et des flegmes de betterave bruts provenant d'une distillerie du Nord.

L'eau-de-vie, amenée à 30°, a donné 9 gouttes de différence avec de l'alcool pur au même titre. Les flegmes, qui marquaient 36°, ont donné une différence de 6 gouttes. Ni l'une ni les autres ne renfermaient donc d'alcool pur, et l'eau-de-vie préparée pour la consommation était plus impure que les flegmes bruts de betteraves.

REVUES ET ANALYSES

SUR LES THÉORIES DE L'IMMUNITÉ.

REVUE CRITIQUE.

FLUGGE. Études sur l'atténuation des bactéries virulentes et l'immunité acquise. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. IV, p. 208. — SMIRNOW. Sur la nature de l'atténuation des bactéries pathogènes *Ibid.*, p. 231. — SIROTININ. Sur les produits vitaux des bactéries arrêtant leur développement, et l'hypothèse dite de rétention. *Ibid.*, p. 262. — BITTER. Survient-il un épuisement des matériaux nutritifs des bactéries à la suite de leur développement dans un être vivant ? *Ibid.*, p. 291. — BITTER. Sur l'extension du vaccin, et l'expansion de la vaccination dans le corps de l'animal vacciné. *Ibid.*, p. 299. — BITTER. Remarques critiques sur la théorie des phagocytes de Metchnikoff. *Ibid.*, p. 348. — NUTTALL. Expériences sur les influences hostiles aux bactéries dans le corps des animaux. *Ibid.*, p. 353.

Le quatrième volume du *Zeitschrift für Hygiene* est presque entièrement rempli par des études sur la théorie de l'immunité, toutes faites dans le laboratoire de M. Flugge qui les a inspirées et contrôlées, et en expose, dans un mémoire spécial, l'idée directrice. La théorie contre laquelle il a groupé ses efforts et ceux de ses élèves, c'est que la virulence n'est pas une manifestation vitale isolée, une propriété qui peut varier seule, indépendamment des autres, mais une modification à laquelle prend part tout le protoplasma, et qui doit se traduire par une augmentation dans la puissance de prolifération et par d'autres caractères extérieurs.

Si c'est là le but poursuivi par M. Flugge, on peut dire qu'il est complètement atteint. M. Smirnow étudie de près, et précise par des chiffres ce fait, familier à tous ceux qui se sont occupés de la culture des vaccins vivants, qu'une bactérie se développe d'autant plus péniblement dans un même milieu qu'elle est plus atténuée. Il montre aussi que la bactérie virulente résiste mieux aux antiseptiques que la bactérie atténuée. MM. Bitter, Nuttall, font voir de leur côté que, dans les questions de vaccination ou d'immunité, qui ne sont que la question de virulence examinée par l'autre bout, les bactériidies atténuées se comportent dans les tissus tout autrement que les bactériidies virulentes. Mais on a le droit de se demander, après avoir constaté le succès de ces études, si une idée aussi fruste de la virulence que celle que nous avons indiquée plus haut méritait un pareil déploiement de forces. Il n'y a guère, croyons-nous, de savants qui en soient restés à une notion aussi incomplète. Si, au contraire, on admet que le mot virulence n'a

aucun sens par lui-même et n'est que le vocable abrégé d'un grand nombre de conditions, si on se rappelle les expériences bien connues qui obligent à faire figurer dans sa définition, non seulement les qualités héréditaires ou acquises du microbe, mais encore l'espèce et la race de l'être vivant auquel on l'inocule, les qualités héréditaires ou acquises de cet être, le lieu et la dose de l'inoculation, la température, etc. ; si, pour donner une image grossière de l'ensemble d'influences qui y entrent en jeu, on se représente la virulence comme la différence variable de poids entre les deux plateaux d'une balance dans laquelle on a mis, d'un côté, le microbe avec toutes ses puissances d'attaque, connues et inconnues, de l'autre l'être vivant avec toutes ses forces visibles et mystérieuses de résistance, on conclura tout de suite qu'une question aussi complexe n'est pas de celles qui se résolvent, comme on a essayé de le faire au laboratoire de M. Flugge, par des cultures en tubes et en plaques. Ces méthodes simplificatrices ont servi et serviront longtemps encore à étudier le gros des phénomènes, à se faire des idées que l'on qualifiera ambitieusement du nom de théories, et à se tracer des programmes d'expérience, mais, quand on en arrivera à l'être vivant, on s'apercevra bien vite, comme le dit excellemment un des élèves de M. Flugge, que « les résultats obtenus dans les cultures de laboratoire ne peuvent pas être étendues sans autre forme de procès aux actions dans les êtres vivants », et qu'il y a chez ceux-ci une délicatesse de mécanisme qui rend caduques toutes les conclusions de nos méthodes grossières.

De ce que M. Sirotinin, par exemple, trouve et montre qu'on ne perd pas grand'chose et qu'on gagne même quelquefois à cultiver une bactérie dans un milieu nutritif dans lequel on a fait entrer, pour moitié ou pour la totalité, un liquide antérieur de culture du même microbe, surtout si on a pris soin de neutraliser l'excès d'acide ou d'alcali produit par la première culture, a-t-on le droit de conclure que l'immunité conférée à un être vivant par une première vaccination n'a rien à faire avec les produits laissés dans le corps par l'inoculation et la maladie préservatrice ? Évidemment non. Il faudrait d'abord avoir démontré que les produits formés dans le corps sont les mêmes que dans nos bouillons ou nos gélatines, que, s'ils sont les mêmes au moment où ils ont sécrétés ou excrétés par les microbes, ils restent les mêmes et ne sont pas modifiés, ou le sont également, soit par oxydation, soit autrement, dans les milieux si divers où ils sont sécrétés ; il aurait enfin fallu savoir (et ici, comme nous rentrons dans le cadre expérimental de M. Sirotinin, l'objection sera plus directe) si on avait bien le droit de demander à ces produits d'une première culture d'arrêter ou de retarder beaucoup la seconde, surtout lorsqu'on les mélangeait à des matériaux nutritifs nouveaux. La plus légère différence, le plus léger retard, la résistance la plus faible doivent suffire en pareil cas, car en vertu de l'exacte pondération des forces à l'origine d'une maladie microbienne, la moindre influence suffit à porter la victoire de l'un ou l'autre côté.

Or, ces différences, M. Sirotinin les a rencontrées quelquefois (p. 273, 274, 280). Il n'y a pas fait attention, parce qu'il les jugeait trop faibles et s'attendait à mieux, ou bien il les a rapportées à d'autres causes que la présence de produits nocifs déposés par la première culture, par exemple à

l'épuisement des matériaux nutritifs qu'elle aurait amené, sans songer qu'il suffit que ces différences existent, que la cause nous en est au fond indifférente, lorsqu'elle est dans la nature des choses et ne dépend pas d'un artifice expérimental. La nature se moque bien de nos classifications et de nos théories ! Les élèves de M. Flugge lui ont demandé, l'un si elle opérait, dans la vaccination, par addition d'une substance nuisible, l'autre par soustraction d'une substance utile, le troisième par phagocytose. Il est probable que si elle n'était pas aussi silencieuse, elle nous répondrait qu'elle ne comprend rien à des questions posées d'une façon aussi exclusive, qu'elle emploie à la fois tous ces moyens et beaucoup d'autres, et qu'elle fait de son mieux.

En résumé, M. Sirotinin a montré, et ceci est intéressant, que les difficultés qu'on trouvait quelquefois à faire se développer à nouveau un microbe dans un milieu dans lequel il avait déjà vécu tenaient en partie à l'excès d'acide ou d'alcali produit par la première culture, mais, quoi qu'il en pense, ses conclusions restent en harmonie avec ce fait qu'un microbe n'aime pas à habiter à nouveau un milieu où il a déjà vécu, et elles ne démontrent nullement, en tout cas, qu'une première culture vaccinale ne dépose pas dans l'être vivant des substances pouvant, avec l'appoint des autres forces de résistance de l'organisme, arrêter le développement de la culture virulente.

Nous pouvons en dire autant de M. Bitter qui a cherché à voir si la stérilité du second ensemencement tenait à ce que la première culture avait épuisé les tissus d'un élément utile. Il montre pour cela que la bactériodie charbonneuse pousse parfaitement dans le sang d'un animal mort du charbon, et qu'elle se multiplie aussi vite dans le sang et le sérum d'un mouton vacciné contre le charbon que dans le sang et le sérum d'un mouton non vacciné. Contrairement à une observation de Schottelius, qui avait vu, dans deux cas, le bacille du rouget pousser moins bien sur un bouillon gélatinisé préparé avec des muscles de porc mort du rouget, qu'avec des muscles de porc sain, M. Bitter ne retrouve plus le même résultat en comparant le bouillon de pigeon mort du rouget avec le bouillon de pigeon sain. Il ne le retrouve pas non plus avec le bouillon de lapin et de mouton vacciné contre le charbon, par comparaison avec celui des mêmes animaux dans leur état normal, et, de ces expériences, il se croit en droit de conclure, « avec une entière assurance, que l'immunité contre le charbon, le rouget et le choléra des poules, n'est pas due à l'épuisement d'une matière nutritive quelconque dans les liquides du corps ». C'est, croyons-nous, aller un peu vite. Si cette démonstration résultait du simple fait que la bactériodie du charbon peut se multiplier dans le sang après la mort, il y a longtemps qu'elle serait faite, car cette observation est ancienne. Mais qui est-ce qui assure à M. Bitter que la mort de l'animal ne précède pas de beaucoup l'épuisement de la substance nutritive par le microbe ? et, s'il n'en sait rien, que devient, non son expérience, mais sa conclusion ? Quant à la comparaison entre les puissances nutritives des bouillons d'un animal vacciné et d'un animal normal, nous n'avons pas à choisir entre M. Schottelius qui dit qu'il y en a une, et M. Bitter qui n'en trouve pas. Nous nous en référons à ce qui a été dit

plus haut, c'est que du moment qu'il suffit pour le résultat qu'il existe une très petite différence, il faut se mettre dans des conditions qui puissent manifester ces très petites différences, ce qu'une comparaison, nécessairement grossière, de la rapidité et de l'aspect de la culture, ne permet évidemment pas. Il faudrait, par exemple, au lieu d'opérer sur des liquides très nutritifs, opérer avec des liquides médiocres dans lesquels l'influence d'une cause altérante apparaîtrait mieux. On pourrait encore essayer de mesurer le poids de plante produite, ou la quantité d'oxygène consommé dans les premières heures pour des quantités égales de semence dans chacun des deux bouillons vacciné, et non vacciné. Peut-être tirerait-on de là quelque induction, mais avant de l'étendre à l'organisme il faudrait encore tenir compte de la difficulté, reconnue par M. Bitter lui-même dans la phrase que nous citons plus haut, « d'étendre sans autres formes de procès, aux actions dans les êtres vivants, les résultats de cultures de laboratoire ».

Nous nous croyons donc autorisés à ne pas insister plus longtemps sur tous les procédés de démonstration qui, dans les travaux que nous analysons, concluent du vase de verre aux tissus vivants. Nous passerons brièvement aussi sur le travail dans lequel M. Bitter constate que le vaccin qu'on inocule à un animal ne s'étend pas loin autour du point piqué, que sa multiplication est en outre très limitée, qu'il manque dans le sang et les divers organes, et que, malgré cela, l'immunité qu'il confère s'étend à des régions qu'il n'a pas visitées et est tout à fait générale. Il tire de ces faits, qui ne sont pas tous de lui, et dont quelques-uns seront contestés dans un prochain numéro des *Annales*, mais qu'il groupe dans son argumentation, la conclusion que cette disproportion entre le développement maigre et limité du microbe vaccinal, et le caractère général de l'immunité produite, ne sont en harmonie, ni avec la théorie de l'épuisement d'une substance utile, ni avec celle de l'adjonction d'une substance nuisible. M. Bitter aurait pu ajouter qu'elle plaide aussi contre la phagocytose et presque toutes les théories de l'immunité. La vérité, croyons-nous, est qu'elle ne plaide sérieusement contre aucune, ne serait-ce qu'à cause du sang, qui allant incessamment de la région colonisée par le microbe à celle qui en est exempte, peut envoyer de l'une à l'autre la substance active, s'il y en a une, que le microbe absorbe ou dépose dans le tissu où il s'implante. La fièvre vaccinale est un indice de cette activité dans les mutations des tissus et la vie cellulaire. Il est clair maintenant que si le développement du vaccin est médiocre, son action sera faible, mais alors la fièvre sera modérée et l'immunité incertaine et passagère¹. En somme, un être vivant n'est pas un milieu gélatinisé, et toute modification sur un point retentit bientôt sur l'ensemble.

On voit que nous revenons toujours à la même objection. Hâtons-nous de dire pourtant qu'elle ne s'applique pas à tous les mémoires du recueil que nous analysons, et que même dans ceux qui en relèvent, il y a de

1. Voir à ce sujet, dans ce volume des *Annales*, les intéressants mémoires de M. Gamaleïa.

nombreux faits intéressants que nous avons maintenant le devoir plus agréable de mettre en lumière.

Voici d'abord le mémoire de M. Nuttall, dans lequel l'étude de la phagocytose se trouve abordée par des moyens plus adéquats à la nature du problème, et analogues, du reste, à ceux qu'avait employés M. Metchnikoff. Dans ses expériences sur les grenouilles, ce savant avait vu des fragments d'organes charbonneux, introduits sous la peau de grenouilles vivantes, s'y entourer d'une couverture de leucocytes, dans lesquels on trouvait les bacilles charbonneux dégénérés et morts, si bien que le fragment introduit perdait bientôt toute virulence. Avec les lapins, on leur insinuait, sous la peau de l'oreille, un tube mince fermé aux deux bouts, renfermant une culture du bacille atténué, qu'on brisait quand la blessure était refermée, et avec lequel on retrouvait le même mécanisme de l'intervention des leucocytes faisant disparaître les bacilles. M. Nuttall reprend ces méthodes, mais en les modifiant sur plusieurs points. Son idée est de chercher si « les phagocytes absorbent réellement les bacilles vivants, et s'ils sont les seuls à pouvoir les détruire, car si on trouve que cette absorption est limitée à une partie des bacilles tandis qu'une autre partie est tuée, sans intervention des leucocytes, par une autre influence quelconque du corps vivant, alors l'importance fonctionnelle des phagocytes devient douteuse, et il devient possible qu'ils ne soient plus capables que d'absorber des bacilles dégénérés par ailleurs et sous d'autres influences ».

Il fallait, pour établir cette thèse, une étude soigneuse que M. Nuttall conduisait de la façon suivante. Le morceau d'organe charbonneux, après avoir séjourné un temps variable sous la peau de la grenouille, ressortait entouré et pénétré d'un exsudat gélatineux et jaune grisâtre. Une partie était diluée dans la solution physiologique de sel marin et soumise à l'observation microscopique sous une lamelle paraffinée. Dans cette préparation on pouvait, comme M. Metchnikoff l'avait fait, observer les mouvements des leucocytes, et éventuellement l'absorption qu'ils faisaient des bacilles. Une autre portion de l'exsudat servait à faire des préparations sèches, pour la coloration desquelles M. Nuttall préfère à la vésuvine employée par M. Metchnikoff, et qui dit seulement si les bacilles sont vivants ou morts, le bleu de méthylène qui manifeste par des colorations différentes, allant du bleu franc au rouge violacé, les degrés divers de dégénérescence de la bactérie. De plus, il a essayé d'arriver à une plus exacte appréciation du pouvoir absorbant des leucocytes, en comptant sur chaque préparation le nombre de bacilles qu'il voyait libres et ceux qu'il trouvait inclus dans les cellules. Il faisait les numérations sur plusieurs champs et prenait la moyenne.

Ce n'est pas tout. Pour voir si le morceau extrait contenait encore des bacilles et si ces bacilles étaient virulents ou atténués, M. Nuttall employait ce qui lui en restait à faire des cultures sur plaques et à inoculer des souris. Il pouvait ainsi faire marcher de pair l'étude de l'absorption des leucocytes, de la dégénérescence du bacille, de sa diminution de virulence et de sa disparition graduelle.

Il a ainsi confirmé entièrement les résultats de Metchnikoff, en ce qui

concerne le rassemblement des leucocytes autour du morceau à digérer, leur avidité pour les bacilles charbonneux, et la mort de ceux qu'ils contiennent. L'absorption lui a paru dans tous les cas moins rapide qu'à M. Metchnikoff. Elle est en outre de durée très variable. Ce qu'il y a de plus important, c'est qu'elle n'est jamais complète, c'est-à-dire qu'on trouve toujours en dehors des leucocytes autant, sinon plus de bacilles qu'il n'y en a d'absorbés, et que la dégénérescence semble marcher aussi vite pour les uns que pour les autres. Les formes dégénérées devenant invisibles, le nombre des bacilles diminue plus ou moins vite, mais, contrairement encore à M. Metchnikoff qui avait vu la virulence disparaître entre 3 et 5 jours, contrairement aussi à Lubbarsch, dont le travail a été analysé ici même ¹, M. Nuttall a trouvé la vie et la virulence très persistantes dans le morceau inoculé, car il a pu, après 46 à 47 jours, en retirer de quoi tuer des souris dans le temps normal du microbe le plus virulent, à la condition de faire avec ce morceau une émulsion fine qui y mette en liberté tous les bacilles.

Toutes ces expériences ont été faites de 10° à 16°. En élevant la température à 23°, l'activité des phagocytes croît. Mais le nombre des bacilles croît aussi, car il y a une multiplication très notable dans les premiers jours. La proportion des bacilles libres et des bacilles absorbés ne s'éloigne donc pas beaucoup de ce qu'elle était à plus basse température. Puis, lorsque la grenouille ne meurt pas par suite de ce séjour à la chaleur, le nombre des bacilles libres et absorbés diminue peu à peu. Mais ceux qui restent vivants conservent leur virulence, car après 7 jours, on a pu retirer du morceau inoculé de quoi tuer une souris en 25 heures. Au bout de 9 jours, les bacilles semblaient avoir disparu, car inoculations et cultures sont restées absolument stériles.

En voyant dans cette expérience les bacilles se multiplier d'abord, puis s'arrêter dans leur développement, et finalement disparaître plus vite qu'à plus basse température, on peut se demander si cet arrêt n'est pas dû aux leucocytes. M. Nuttall, emporté par sa thèse, est disposé à restreindre leur influence, en faisant observer que tous les bacilles ne sont encore pas ici inclus dans les cellules, et que ceux qui sont libres périssent aussi vite que les autres. Mais comme nous l'avons fait observer plus haut, il ne faut pas apporter dans l'étude de la nature des vues absolues. Il doit nous suffire de constater, à la suite de M. Nuttall, que l'action des leucocytes augmente selon les besoins, pour que nous soyons autorisés à penser qu'ils servent à quelque chose.

Au delà de 23°, les expériences deviennent de plus en plus difficiles, car les grenouilles périssent vite, et ne réagissent presque plus. On ne peut plus constater chez elles que la période de multiplication initiale des bacilles, qui peuvent même apparaître dans le sang du cœur, sans qu'il soit par cela bien démontré qu'elles sont mortes plutôt du charbon que de la chaleur.

Avec le lapin, sur lequel M. Nuttall a recommencé les expériences de M. Metchnikoff, les résultats ont été du même ordre que ceux qui précèdent. Avec des bacilles atténués, réaction locale active, absorption phagocytaire,

mais aussi bacilles libres dont la dégénérescence marchait du même pas que chez les bacilles absorbés. Avec des bacilles virulents, réaction locale d'autant plus faible que le contenu du tube insinué sous l'oreille du lapin était plus grand. L'absorption leucocytaire est nulle ou à peu près, les bacilles se multiplient, ce qui confirme d'une manière générale les relations établies par M. Metchnikoff, confirmées depuis par MM. de Christmas et Gamaleia, entre la virulence du microbe et le degré de réaction locale au point d'inoculation. Mais ici encore, on trouve des formes dégénérées dans les exsudats séreux, en dehors de toute influence des leucocytes.

Tout n'est pas également probant dans les faits que nous venons de citer. Ainsi le choix de la souris est defectueux pour juger de l'atténuation des bacilles, parce que cet animal est encore très sensible aux virus très atténués. Il aurait fallu prendre des animaux plus résistants, et peut-être alors, M. Nuttall aurait-il vu apparaître des preuves de cette atténuation qu'il nie. Mais, dans leur ensemble, les observations qui précèdent paraissent bien indiquer que la destruction des bactéries chez les êtres vivants ne semble pas être l'œuvre exclusive des phagocytes, et n'appuient pas la thèse établie par M. Metchnikoff. On s'explique mal que des faits si apparents pour M. Nuttall aient échappé à un autre observateur qui ne passe pas pour malhabile, et qui nous dira certainement ce qu'il en pense. En attendant, nous ne pouvons qu'en prendre acte.

M. Metchnikoff avait aussi employé une autre méthode. En observant avec soin, sur une platine chauffées, les relations des bacilles ensemencés dans une goutte de lymphe de grenouille avec les leucocytes de cette lymphe, il avait vu que les leucocytes englobaient les bacilles, que seuls, les bacilles absorbés montraient des formes dégénérées, et que les leucocytes des animaux jouissant d'une immunité naturelle ou acquise avaient à ce double point de vue une activité plus grande que chez les animaux à grande réceptivité.

M. Nuttall a tenu à reprendre ces recherches, qui se sont beaucoup étendues, et dont les résultats sont peut-être la chose la plus originale de son mémoire, s'il ne s'y est pas glissé de causes d'erreurs. Ils reviennent, en effet, comme on va le voir, à trouver dans le sang des animaux divers, extrait de l'organisme, des différences en rapport général avec le degré de susceptibilité que manifestent ces animaux vis-à-vis de la maladie charbonneuse. Il s'est servi pour cela, non d'une platine chauffante, mais d'une sorte de boîte à double paroi, entourant tout le microscope, remplie d'eau dans ses parties fixes, d'amiante sur ses parois mobiles et chauffée par une petite lampe. Pour se procurer de la lymphe, il insérait sous la peau d'une grenouille de la ouate stérilisée, autour de laquelle il se réunissait en 24 heures assez de liquide pour qu'on puisse en faire plusieurs *gouttes pendantes*, qu'on ensémençait sur leurs bords avec des bacilles charbonneux, et qu'on soumettait à une observation attentive.

« Sur ces préparations, on voyait, dès le commencement de la recherche, l'absorption des bacilles par les leucocytes en actif mouvement. De longs

filts étaient quelquefois tellement happés par de nombreux leucocytes que le tout avait l'aspect d'un chapelet. » Il semble que cette observation suffise à montrer que les leucocytes ne prennent pas seulement des bacilles morts ou même un peu dégénérés.

« Les procès de dégénérescence étaient visibles après quelques heures, aussi bien sur les bacilles libres que sur les bacilles absorbés, mais ils étaient surtout marqués et prompts aux températures comprise entre 43° et 48°. » Tantôt le protoplasma des bacilles devient de plus en plus granuleux, si bien que le bacille semble tomber en morceaux. Tantôt le caractère granuleux fait place à une sorte d'état muqueux, qui pâlit et élargit le bacille et le rend presque invisible. La coloration qu'il prend sous l'action d'une dissolution alcaline de bleu de méthylène vire d'autant plus au rouge que la dégénérescence est poussée plus loin.

« Plus d'une fois on a vu que les leucocytes saisissaient de longs bacilles, et les courbaient et les brisaient de toutes façons. Dans quelques cas on a observé autour des bacilles absorbés la formation de vacuoles, ce que M. Metchnikoff interprète comme un symptôme de digestion intracellulaire des bacilles, par analogie avec ce qui se passe chez les amibes. Mes observations m'éloignent de cette idée, car la production des vacuoles est très irrégulière. On en trouve parfois dans des cellules ne contenant aucun bacille : d'autres fois, et ce n'est pas rare, il s'en forme autour des bacilles dès qu'ils sont absorbés; enfin on n'en trouve pas toujours dans des cellules pleines de bacilles. »

Les résultats ont été les mêmes avec du sang de grenouille et du sang de crapaud. M. Nuttall a aussi étudié le sang de divers animaux à sang chaud : hommes, chien, mouton vacciné et non vacciné, lapin, souris, poule, pigeon. Le sang était observé en goutte pendante, et ensemencé avec des bactériidies sur son bord extrême, de façon qu'après coagulation et expulsion du sérum la bactériдие fût toujours entourée de liquide. On notait dans chaque cas le temps moyen de la dégénérescence maximum, c'est-à-dire celui après lequel il n'y avait plus de modifications dans l'aspect des bacilles. Il y avait alors une période stationnaire après laquelle les bacilles restés vivants se multipliaient à nouveau et remplissaient la goutte pendante de leurs filaments. C'est cette période qui précède la multiplication qui est la plus curieuse à étudier dans le mémoire de M. Nuttall, car il n'y a rien de pareil quand on ensemence la bactériдие dans du bouillon, où le développement commence de suite.

C'est dans le sang de l'homme que la dégénérescence marche le plus vite. Elle est d'ordinaire terminée en moins de 2 heures, et après 4 heures les bacilles sont en voie de développement. Elle est presque aussi rapide dans le sang de mouton vacciné, un peu plus lente dans le sang de mouton non vacciné. Là aussi, après une période stationnaire plus longue que chez l'homme, il y avait à nouveau multiplication. L'un des chiens sur lequel on a opéré avait été tué par le chloroforme. La dégénérescence dans son sang a été presque nulle et la multiplication a commencé de suite. Dans le sang d'un autre chien, recueilli sur le vivant, le procès a été à peu près comme dans le sang de l'homme.

Dans le sang des oiseaux, la dégénérescence commence vite, mais elle n'atteint qu'un nombre restreint de bacilles, sans doute parce que le coagulum est très compact, et ne laisse exsuder que très peu de liquide. Nous verrons tout à l'heure que défibriné, ce sang a, au contraire, un pouvoir destructeur très énergique.

Dans le sang de lapin, la destruction des bacilles est plus complète que dans les cas qui précèdent. Dans un cas, elle a même été absolue, car l'ensemencement est resté stérile. En moyenne, presque tous les bacilles sont dégénérés après 5 heures; c'est après 28 heures qu'il y a de nouveau développement. Enfin, il n'y a pas de dégénérescence avec le sang de souris, la multiplication commence de suite.

Dans toutes ces expériences, il y avait en absorption plus ou moins rapide des bacilles par les leucocytes, mais la dégénérescence s'était produite en dehors des cellules, comme dans leur intérieur. Elle marche, du reste, à peu près du même pas dans l'humeur aqueuse ou dans la sérosité péricardique, qui contiennent très peu de leucocytes. « Nous sommes donc conduits à présumer que les bacilles pris par les leucocytes n'étaient déjà plus normaux, et que c'est dans le liquide qui entoure les cellules qu'il faut chercher les causes de destruction. Le parallélisme qui s'est manifesté dans la plupart de mes recherches entre la rapidité d'apparition du procès destructeur des bactéries et leur saisie par les leucocytes, parle nettement en faveur de cette idée. Plus la dégénérescence des bacilles libres marche vite, plus nous en trouvons dans les leucocytes. Si elle est lente, l'activité vitale des leucocytes s'affaiblit ou s'éteint, et l'absorption reste faible. »

Cette influence nocive, attribuée par l'expérience aux liquides de l'organisme, est d'accord avec quelques-uns des résultats de Fodor (*Deutsch. med. Wochenschr.*, 1887). Elle est d'autant plus curieuse à étudier qu'elle semble n'être pas persistante. Quand on recommence avec du sang extrait depuis longtemps, on trouve qu'après 4 à 16 heures, il n'y a plus de dégénérescence. La prolifération commence de suite.

Les bacilles qui se montrent dégénérés après un court séjour dans le sang frais sont-ils réellement morts, ou seulement modifiés dans leur grosseur et leur aspect? Pour le savoir, il n'y a qu'à faire des cultures dans lesquelles, après avoirensemencé dans du sang un nombre déterminé de bacilles, mesuré au moyen d'une culture sur plaques, on mesure par le même moyen, à divers intervalles, le nombre de ceux qui restent capables de se développer dans la gélatine nutritive. Il faut évidemment, pour pouvoir faire ces essais, opérer sur du sang défibriné. M. Nuttall le recevait, au sortir de l'artère ou de la veine, sur du sable stérilisé, contenu dans un flacon stérilisé et sortant de l'étuve à 38°, agitait pendant quelques secondes, et le répartissait ensuite dans des tubes à essai, dans lesquels se faisaient l'ensemencement et les prises d'essai à divers intervalles.

On a trouvé ainsi que tous les sangs détruisaient en partie les bactéries mises à leur contact, mais qu'ils avaient à ce point de vue des activités très diverses.

Par exemple, « dans le sang d'un mouton vacciné, le nombre des

bacilles est tombé, en 3 heures $1/2$, dans la prise d'essai, de 4578 et 4872 à 185 et 283, dans un autre cas, de 11046 et 9245 à 427 et 665, tandis que dans un mouton non vacciné, le nombre était tombé seulement en 3 heures, de 7938 et 8330 à 6664 et 4872. De nouvelles expériences diront si cette différence est constante entre le sang des moutons vaccinés et non vaccinés. Il peut y avoir eu des erreurs dans mes résultats, parce que, dans d'autres cas, on a observé des variations analogues dans la puissance destructrice du même sang ».

Ceci prouve que M. Nuttall n'est pas maître de ses expériences, et on est dès lors fondé à y suspecter des causes d'erreur. A priori, on peut en relever deux.

D'abord, l'origine diverse des semences. Des bactériidies atténuées ne se comporteront pas dans le sang, qui est un milieu médiocre pour l'espèce, comme des bactériidies virulentes, et il y a peut-être là une explication des contradictions observées.

En second lieu, M. Nuttall ne semble pas s'être assez méfié de la privation d'oxygène que les bactériidies subissent dans les premiers moments de leur séjour dans le sang jusqu'au moment où la vie des éléments organiques y est tout à fait éteinte, et les phénomènes d'oxydation terminés. Il y a là de quoi nuire aux bactériidies, surtout aux plus atténuées. On pense à chaque instant à cette cause d'erreur, en voyant M. Nuttall trouver les résultats qui suivent.

Le nombre des bacilles diminue d'ordinaire dans tous les sangs, en particulier dans celui des oiseaux, à propos duquel nous étions tout à l'heure restés hésitants : puis, au bout d'un temps variable, il augmente, parce que la multiplication entre en jeu. Tel n'est pas toujours le cas. Il arrive quelquefois, surtout lorsque l'ensemencement est faible, que tous les bacilles périssent. En revanche, encore ici dans le sang de la souris, il n'y a pas de dégénérescence sensible, et la multiplication commence dès l'ensemencement. Enfin tel est presque toujours le cas quand on laisse quelques heures le sang au sortir de la veine sans l'ensemencer. Les bactéries qu'on y apporte ensuite se multiplient dès les premiers moments.

Le sang est donc un milieu nutritif, puisqu'il laisse le développement des bacilles se faire après quelques heures, et l'action bactéricide qu'il manifeste dans les premiers moments, et qui disparaît alors même qu'il n'y a pas eu d'ensemencement, ne peut être due que « soit à une substance très volatile ou très instable, soit, ce qui est plus vraisemblable, à une action de diastase ». Ce qui confirme M. Nuttall dans cette opinion, c'est que le sang perd cette faculté quand il a été chauffé de 50 à 55°.

Ajoutons, pour terminer, que l'humeur aqueuse et la sérosité péricardique se comportent encore à ce point de vue comme le sang, et que ce ne sont pas seulement les bactériidies charbonneuses qui éprouvent ces influences. Les *bacillus subtilis* et *megaterium* sont dans le même cas. Le *Staphylococcus pyogenes aureus* paraît au contraire résister à l'action du sang, et sa multiplication commence de suite.

La plupart de ces résultats, on le voit, pourraient être mis au compte des variations naturelles ou provoquées dans la puissance d'absorption du sang pour l'oxygène, mais nous n'avons pas le droit de substituer cette in-

interprétation à celle de M. Nuttall. Bornons-nous à faire remarquer que s'il y a réellement, comme il le pense, action de diastases, et si ces diastases existent dans le sang et dans les humeurs, elles doivent, suivant tout ce qu'on sait de leurs propriétés, être fixées en abondance encore plus grande sur les éléments figurés de ces liquides organiques, et en particulier sur les leucocytes, de sorte que M. Metchnikoff aurait raison de même que M. Nuttall. Au reste, bien que dans le travail que nous analysons, et surtout dans la critique de M. Bitter sur la phagocytose, on parle toujours du caractère absolu que M. Metchnikoff a donné à ses opinions et à sa théorie, il nous paraît que ce savant n'a jamais pensé ni dit que la phagocytose expliquât tout, et fût le seul moyen de protection à la disposition de l'organisme. Fût-elle même le seul rouage moteur, il resterait encore à chercher ce qu'il y a dans le mot phagocytose, et de quel mécanisme elle dépend elle-même.

Si les idées de M. Nuttall sont exactes, l'action dépend d'un phénomène d'action de diastases ou de digestion. Peut-être faut-il faire à ce sujet quelques réserves. On comprend avec cette hypothèse que le sang perde son activité à l'air et à la chaleur. Il y a oxydation ou insolubilisation de la diastase. On comprend qu'il ne tue pas tous les bacilles qui, au moment où on les introduit dans le sang, sont d'âges divers, et inégalement résistants, mais on ne comprend pas qu'il ne laisse pas germer de suite ceux qu'il n'attaque pas. On comprend, à la rigueur, qu'il puisse agir différemment sur les bacilles atténués et les bacilles virulents, qu'il digère les uns et se laisse envahir par les autres, mais si l'immunité est due à une destruction des microbes virulents, on ne s'explique ni comment M. Smirnow a pu trouver des spores atténuées vivantes encore après plusieurs semaines dans le corps du lapin, ni surtout une observation curieuse de M. Bitter, qui ayant injecté (p. 315) à deux moutons vaccinés de grandes quantités de spores charbonneuses virulentes dans une veine de l'oreille, et les ayant tués au bout de 6 et 9 jours, a trouvé encore au bout de ce temps, dans leur rate et surtout dans leur foie, de grandes quantités de bactériidies encore virulentes, et en nombre à peu près égal dans les deux expériences, ce qui semble prouver que la destruction des germes était lente et aurait encore demandé longtemps pour être complète. Quelle peut bien être la cause de cette inertie curieuse de germes très virulents dans le corps d'un animal vacciné, cause qui est sans doute la même dans le corps d'un animal naturellement indemne ? Il faut avouer que toutes les théories restent un peu muettes à cette question, et celle de la phagocytose encore plus que les autres. Nous n'avons donc pas envisagé toutes les faces du problème, ni effleuré toutes les solutions. Il est donc bien inutile de discuter sur le caractère plus ou moins absolu d'une théorie. Aucune de celles qui ont été émises n'est à elle seule toute la vérité. Mais il suffit qu'elles en contiennent chacune une part, et nous croyons qu'on peut résumer ce qui précède en disant que cette part de vérité des théories actuelles, les expériences très soigneuses, du reste, des élèves de M. Flugge n'ont pas réussi à la mettre en état de suspicion légitime.

E. METCHNIKOFF. Sur le rôle phagocytaire des cellules géantes du tubercule, *Virchow's Archiv*, t. CXIII, 1888.

M. Metchnikoff vient de publier, sur le rôle phagocytaire des cellules géantes du tubercule, un mémoire qui mérite d'être étudié de près, tant à cause des faits nouveaux qu'il apporte, que parce qu'il se trouve en contradiction avec la plupart des travaux publiés jusqu'ici sur le même sujet. Poursuivant ses études sur le rôle des divers éléments cellulaires de l'organisme dans la lutte contre les microbes, M. Metchnikoff devait arriver à la cellule géante dans les cas de tuberculose. Koch avait déjà vu, dans ces cellules, des bacilles moins facilement ou moins fortement colorables que les bacilles normaux, et avait attribué ce fait à ce que la cellule géante est une forme durable, tandis que le bacille a une durée de vie plus courte, et ne peut se conserver dans la cellule géante qu'à la condition d'y mourir pour faire place à une génération nouvelle. M. Metchnikoff avait au contraire interprété le fait comme une preuve du rôle phagocytaire des cellules géantes. Ce sont les preuves de cette action qu'il apporte aujourd'hui.

Il débute par des renseignements curieux au sujet du bacille tuberculeux. On le connaît dans les tissus sous forme de bâtonnets. On le trouve aussi, dans les crachats de phtisiques et dans la rate du moineau tuberculeux, sous la forme de fils plus ou moins longs. MM. Roux et Nocard ont observé dans de vieilles cellules des formes allongées et gonflées, sur lesquelles on trouvait quelquefois des bourgeons latéraux épaissis, insérés à angle droit sur le bacille. En faisant des cultures à haute température, à 43°,6 par exemple, M. Metchnikoff a vu ces formes anormales se multiplier. Après 20 jours, on voit beaucoup de bacilles s'allonger et s'élargir en massue à leurs deux extrémités. Puis ils se garnissent sur leur longueur de bourgeons plus ou moins nombreux qui grandissent, s'allongent quelquefois à la façon du bacille initial, en restant renflés à leur extrémité libre, d'autres fois s'étranglent en leur point de jonction et se détachent. Les ensembles irréguliers et complexes formés ainsi peuvent aussi se disloquer et donner lieu aux figures dichotomisées les plus variables. Aucun doute ne peut exister sur l'identité d'origine de ces diverses formes qu'on voit passer de l'une à l'autre, et dont l'apparition ne change rien ni à l'aspect macroscopique de la culture ni à ses réactions en présence des diverses matières colorantes. Par exemple, quand on traite successivement par la fuchsine et le bleu de méthylène, toutes ces formes si diverses conservent la première couleur sans se laisser influencer par la seconde.

De cette formation de bourgeons, M. Metchnikoff conclut qu'on peut bien voir là des formes d'involution, mais qu'il est impossible d'y voir des formes dégénérées, et de parler à ce propos de métamorphose régressive. J'ai de la peine à être de son avis. Le mot forme d'involution, que nous pourrions traduire en français par forme anormale, est commode à employer, car il ne préjuge rien. Le mot forme dégénérée est plus précis. Mais M. Metchnikoff conteste qu'il y ait dégénérescence. Son argument, à savoir la production de prolongements latéraux analogues à des bourgeons,

ne serait probant que s'il avait démontré que ces prolongements sont vraiment des bourgeons, c'est-à-dire des corps doués d'une vitalité nouvelle. Jusque-là on a le droit de les prendre pour des expansions dont la formation ne prouve qu'une chose, c'est que le bacille n'est pas mort et traduit les vicieuses conditions d'existence qu'on lui fait par des formes bizarres et tourmentées, ou la symétrie de son aspect, et l'homogénéité de sa constitution ordinaire ont plus ou moins disparu. Comment ne pas croire d'ailleurs à une dégénérescence véritable à ces hautes températures quand on voit que les bacilles tuberculeux y perdent plus tôt leur virulence et y meurent plus vite que dans les conditions ordinaires ?

Au sujet de la structure du bacille tuberculeux, M. Metchnikoff admet l'existence d'une membrane résistante qu'on ne peut, il est vrai, découvrir au microscope même dans les bacilles très épaissis dont nous parlions plus haut, mais dont l'existence est révélée par l'analogie que présentent, dans leur action sur les matières colorantes, les bacilles tuberculeux avec les cellules qu'on sait entourées d'une membrane épaisse, les spores des bactéries, des mucédinées, les coccidies du foie du lapin, les œufs de divers helminthes.

Dans aucun cas, le bacille ne se présente comme une chaîne de coccus. Le protoplasma apparaît quelquefois spongieux et rempli de vacuoles dans les formes renflées que nous avons décrites. On y trouve aussi parfois, çà et là, des granulations plus foncées, à contours irréguliers; mais il n'y a aucun indice de segmentation régulière. Les intervalles alternativement clairs et colorés, qu'on relève parfois sur les bacilles des crachats, sont sans doute dus à des dépôts sur certains points de matériaux de réserve, qui, pas plus là que chez d'autres bactéries, ne prennent la matière colorante. A plus forte raison ne pourrait-on voir des spores dans ces espaces clairs, qui ne se colorent jamais, alors que les spores du bacille charbonneux, pourtant plus résistantes et à membrane plus épaisse, s'il faut en juger par leur vitalité plus grande, finissent par se colorer après une longue ébullition.

On a bien plus le droit de voir des spores dans ces granulations fortement colorées qu'on trouve dans les cultures et aussi dans les crachats, et que leur position régulière et la netteté de leurs contours rapprochent des spores des autres bacilles. Toutefois, M. Metchnikoff ne se prononce pas nettement sur ce point délicat.

En revanche il s'élève contre la dénomination de *bacillus tuberculosis*, en faisant observer que le mot bacille ne peut servir qu'à caractériser une période de développement d'un grand nombre d'êtres divers, mais ne saurait à aucun degré devenir un nom générique. C'est depuis longtemps mon avis et c'est pour cela que j'ai appelé *Tyrothrix* tous les bacilles filamenteux que j'ai trouvés dans le fromage. M. Metchnikoff, après avoir reconnu que le bacille tuberculeux s'allonge aussi en fils, et qu'il a sans doute des parois très épaisses, propose le nom de *Sclerothrix* pour le genre et celui de *Sclerothrix Kochii* pour l'espèce. Il y a dans ce nom un hommage auquel nous nous associons volontiers.

Tournons-nous maintenant du côté des éléments de résistance de l'or-

ganisme, représentés surtout, mais non exclusivement, dans les procès tuberculeux, par les cellules géantes. Pour bien étudier les phénomènes dont elles sont le siège, il faut durcir les tissus dans l'acide chromique ou l'alcool, faire des coupes très fines, et les colorer de préférence par une méthode due à Kühne, qui a permis à M. Metchnikoff de la publier. C'est une combinaison de la coloration par la fuchsine avec l'hématoxyline et l'auramine, qui colore le protoplasme cellulaire en gris jaunâtre, les noyaux en violet, et les bacilles tuberculeux en rouge. « La coupe est d'abord plongée dans une solution forte d'hématoxyline ou dans une solution plus faible d'extrait de campêche traitée par l'alun comme le fait Klein. L'excédent de couleur est enlevé par une plus ou moins longue digestion dans l'eau, et l'eau elle-même par un court séjour dans l'alcool absolu. Les fragments bleu violacés sont alors laissés deux heures dans de la fuchsine, préparée en mélangeant une solution alcoolique concentrée de fuchsine avec un mélange de parties égales de solution à 1 0/0 de carbonate d'ammoniaque et d'eau de Tymol. Après avoir lavé à l'eau, et déshydraté à l'alcool les morceaux fortement colorés, on les laisse quelques minutes dans l'huile d'aniline, puis dans la térébenthine, puis un couple de minutes dans le xylol, puis on les reporte un instant dans l'huile d'aniline pure. Elles passent ensuite dans une solution concentrée d'auramine dans l'aniline, où elles séjournent de 10 à 15 minutes ; on les fait repasser alors de nouveau dans l'aniline, dans la térébenthine et dans le xylol, et on les monte enfin dans une solution de résine de Dammar dans le xylol. »

Ce n'est pas tout-que cette méthode, si bonne qu'elle soit. M. Metchnikoff a eu encore la bonne fortune de trouver un sujet exceptionnel d'expériences dans un rongeur des environs d'Odessa, le *Spermophilus guttatus* de Temminck, qui est une des plaies de l'agriculture locale. Cet animal est très résistant vis-à-vis du bacille tuberculeux et il faut une injection, dans la cavité abdominale, de 1 centimètre cube d'une émulsion épaisse de bacilles tuberculeux très virulents pour le tuer en quelques semaines. Dans l'animal mort, on ne trouve de formations tuberculeuses dans aucun organe, mais l'examen microscopique du foie, de la rate, des ganglions lymphatiques y montre de nombreuses cellules géantes, dont il est facile de suivre le développement qui est à peu près le même partout. Les cellules géantes y naissent du développement de cellules épithélioïdes isolées par une multiplication particulière du noyau, dont les formes karyokinétiques sont des étoiles simples à rayons multiples. Chacun de ces rayons est destiné à former un des noyaux de la cellule géante. Il subit pour cela à son extrémité libre un renflement, qui grossit et semble d'abord homogène, mais qui plus tard se remplit d'une masse transparente dont les contours deviennent irréguliers, et qui ressemble déjà à un nouveau noyau. La chromatine se partage peu à peu en une partie périphérique et une partie centrale, et on a ainsi un ou plusieurs noyaux rattachés par un filament au reste de l'ancien noyau étoilé. Ces noyaux, d'abord très irréguliers de forme et de contours, finissent par prendre la forme ronde ou ovale des noyaux ordinaires. Pendant qu'ils se sont formés, le protoplasma de la cellule épithélioïde a beaucoup augmenté, et a pris les dimensions caractéristiques des cellules géantes.

Voilà le mode le plus général de formation de ces cellules. Il peut bien y avoir aussi multiplication du noyau par division, mais M. Metchnikoff n'a jamais observé sûrement de formation de cellules géantes par fusion de plusieurs cellules épithélioïdes.

Ces cellules géantes émettent des expansions protoplasmiques tout à fait analogues aux pseudopodes des Rhizopodes, et ont l'air d'être bien vivantes. Elles se divisent en 2 ou 3 parties à la suite de la formation en deux ou trois groupes de leurs nombreux noyaux qui se partagent ainsi entre les cellules-filles. Elles paraissent aussi pouvoir se fusionner en masses complexes qui couvrent quelquefois tout le champ du microscope.

Quant à leur structure, on peut y distinguer deux couches protoplasmiques, un entoplasme et un ectoplasme, le premier se colorant en général assez bien, le second restant pâle ou incolore. C'est à la limite des deux couches que sont placés les noyaux, en rangée circulaire plus ou moins régulière.

Nous arrivons maintenant à la fonction de ces cellules géantes. Elles sont des phagocytes tout aussi bien que les cellules épithélioïdes dont elles proviennent. C'est ce que démontrent leurs propriétés amiboïdes, les corps étrangers et les bacilles tuberculeux qu'on y rencontre. « Dans plusieurs cellules épithélioïdes en train de se transformer en cellules géantes, j'ai trouvé un ou plusieurs bacilles tuberculeux. Mais j'ai aussi pu, assez souvent, observer les stades du développement de cellules géantes qui ne contenaient aucun bacille, ce qui empêche de rattacher la transformation de la cellule épithélioïde aux bacilles qu'elle contient. »

On trouve bien, dans les cellules épithélioïdes, des bacilles à formes irrégulières, épaissis ou se colorant mal. Mais c'est le petit nombre. Presque tous ont la forme et l'aspect typiques. Dans les cellules géantes, au contraire, la lutte est plus active, et les aspects de dégradation plus prononcés. On trouve des bacilles déformés, qui, traités par double coloration avec la fuchsine et le bleu de méthylène, se colorent en rose faible ou restent incolores, ou même se colorent en bleu. On peut trouver ces preuves insuffisantes et dire que puisqu'on observe, dans les cultures artificielles, de ces colorations anormales, ces bacilles violets ou bleus que l'on rencontre dans les cellules géantes sont les bacilles inoculés en grande quantité à l'animal qui a fourni les préparations. Mais voici d'autres transformations qui sembleront plus topiques.

Beaucoup des bacilles contenus dans le tubercule paraissent entourés d'une auréole comme celle du bacille de Friedländer. Ils sont alors plus pâles, moins colorés; ils peuvent même être incolores et ont alors des contours nets. Dans un état plus avancé de dégradation, le bacille semble disparaître, pendant que la capsule qui l'entoure prend des contours plus nets et une teinte jaunâtre. « On rencontre ainsi dans la cellule géante une suite de formes en saucisson, tout à fait caractéristiques, dont la configuration générale rappelle seule le bacille originaire, qu'on y retrouve quelquefois sous la forme d'un trait à peine apparent. » Ces boudins se réunissent, se fondent, perdent leurs formes, et finissent par former une masse com-

pacte, d'une couleur ambrée naturelle, qui ne doit rien aux méthodes de coloration.

Voilà une transformation qu'on n'observe jamais dans les cultures, ni dans les tissus en dehors des cellules, qu'on ne peut pas rattacher à la mort naturelle du bacille dans la cellule géante, comme le pensait Koch, parce que tous ces bacilles meurent quelquefois simultanément dans une cellule sans laisser trace de spores ni de générations nouvelles, et dans lequel il faut voir le résultat d'une action de la cellule elle-même. Cette action, dit M. Metchnikoff, n'est pas une action digestive, au sens propre du mot, puisqu'au lieu de liquéfier la matière nutritive, elle en fait une masse résistante et solide que ni les acides ni les alcalis ne peuvent entamer. Il est certain qu'elle se rapproche beaucoup plus de ces phénomènes d'enkystement si souvent observés chez les infusoires, et qui sont des moyens de protection temporaire vis-à-vis d'influences nocives. Mais que cette action ne finisse par être destructive, c'est ce dont on ne saurait douter.

Avec le spermophile, ces témoignages de la victoire des cellules sur les bacilles sont les plus fréquents. On rencontre pourtant aussi des cellules qui continuent à vivre et à émettre leurs pseudopodes, tout en étant pleines de bacilles en apparence intacts, d'autres qui, pleines de bacilles morts en leur centre, en contenaient de normaux à leur périphérie. Mais les cellules géantes mortes sous l'influence des bacilles sont très rares et on ne trouve pas de masses caséeuses, même chez les spermophiles morts après une longue incubation.

Les phénomènes de dégradation bacillaire sont d'autant plus marqués que l'infection de l'animal est plus ancienne. D'après Baumgarten, avec le lapin, animal très peu résistant à l'infection tuberculeuse, on ne trouve traces de cette dégradation dans aucun des éléments des tubercules, pas même dans les cellules géantes. Mais en étudiant la question de près, M. Metchnikoff a retrouvé chez le lapin des faits tout à fait analogues à ceux qu'il avait rencontrés chez le spermophile, toutes les fois que l'incubation avait été longue, par exemple à la suite de l'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil. Les formes de dégradation dans les cellules géantes sont alors celles que nous avons décrites. Elles sont seulement moins nombreuses que chez le spermophile.

Les cellules géantes du lapin sont donc aussi des phagocytes. Elles n'ont pourtant pas le même développement que celles du spermophile. Elles proviennent plutôt de la fusion de deux ou plusieurs cellules épithélioïdes sans transformation apparente dans les noyaux. M. Yersin avait déjà décrit dans ces *Annales* ce mode de production.

M. Metchnikoff termine cet intéressant mémoire en discutant les points sur lesquels il est en contradiction avec les opinions et les résultats de MM. Weigert, Baumgarten, de Christmas, etc. Il serait trop long d'entrer dans cette discussion. Ce qui précède suffit à donner une idée des faits nouveaux et curieux apportés par M. Metchnikoff dans cette question doublement délicate de la phagocytose dans ce tubercule.

Dx.

N. GAMALEIA. Sur l'étiologie du choléra des poules. *Centralbl. f. Bact.*, t. IV, p. 461, 1888.

« Deux fois déjà, pendant un été chaud, j'ai rencontré sur des cadavres de pigeons morts par intoxication avec des bactéries non pathogènes, des bactéries dont l'apparition était pour ainsi dire spontanée, et qui manifestaient une telle virulence que l'inoculation sous-cutanée d'une seule goutte du sang d'un pigeon mort tuait en quelques heures un nouveau pigeon. Sur les cadavres, on relevait les signes d'une septicémie suraiguë : point de réaction au point d'inoculation, hyperémie du canal intestinal, et masse de bactéries dans le sang. »

Ces bactéries étaient de fins bâtonnets dont les extrémités se coloraient beaucoup plus que le centre, et ressemblaient tout à fait aux microbes du choléra des poules, pour leur forme et leur mode de croissance dans le bouillon, la gélatine et la gélose.

D'où pouvaient provenir ces bactéries? En songeant combien le microbe du choléra des poules est sensible à l'influence de la dessiccation, de l'air et de la lumière, il semble difficile d'admettre qu'il soit largement répandu dans la nature et dans le milieu ambiant. M. Gamaleïa s'est alors demandé s'il n'existait pas normalement à l'état de parasites dans l'intestin de quelques oiseaux, et il prouve de la façon la plus nette la réalité de cette hypothèse.

En inoculant à un lapin, par voie d'injections sous-cutanées, un peu du contenu de l'estomac, du gros et du petit intestin d'un pigeon sain tué à cet effet, le tout mélangé à du bouillon stérilisé, il l'a vu mourir en 36 heures environ, avec les symptômes ordinaires de la septicémie des lapins, et une goutte de son sang, remplie de microbes analogues à ceux du choléra des poules, a servi d'abord à inoculer un autre lapin qui mourut en quelques heures, puis à faire des cultures. Il a transporté ainsi de lapin à pigeon, et de pigeon à pigeon, ce microbe, qui partout a donné les lésions caractéristiques de la bactérie du choléra des poules, et lui ressemblait aussi pour son mode de développement dans différents milieux.

Les résultats de l'inoculation de la matière intestinale d'un second pigeon sain ont été les mêmes.

Une preuve plus complète de l'identité entre le microbe étudié par M. Gamaleïa et celui du choléra des poules est que le premier peut servir de vaccin au second. En inoculant à une poule, d'abord 0^{cc},25 d'un mélange de bouillon et d'un sang très virulent de pigeon tué par le microbe, puis 0^{cc},5 du sang d'un autre pigeon, tué de même, on lui communique deux maladies passagères ¹ qui lui permettent de résister à l'inoculation du sang du cœur d'une poule morte du choléra, inoculation mortelle pour une poule de contrôle.

Il y a donc identité entre les deux microbes, que M. Gamaleïa appelle du

1. M. Gamaleïa ajoute à ces faits, et au sujet des conditions d'efficacité de la vaccination, des considérations sur lesquelles nous reviendrons.

nom commun de *coccobacillus avisepticus*. Mais dès lors se pose la question suivante. Dans quelles conditions ce microbe devient-il dangereux pour l'animal qui le porte ? Dans les expériences de M. Gamaleïa, il l'est devenu chez des animaux inoculés par ailleurs avec des microbes inoffensifs. « Son entrée en scène, ajoute ce savant, peut être expliquée soit : 1° par une intoxication générale produite par les produits vitaux des microbes non pathogènes, soit : 2° par la gastro-entérite que ces microbes ont la faculté de produire, soit : 3° par l'éloignement de tous les phagocytes mésodermiques du canal intestinal, occupés à la digestion des microbes saprophytiques non pathogènes introduits en grande quantité. »

Des expériences directes ayant paru démontrer l'inanité des deux premières hypothèses, M. Gamaleïa accepte la dernière, mais il est trop perspicace pour ne pas voir que cette conclusion, assise sur des faits négatifs, n'a aucune solidité, et qu'il se doit à lui-même de ne pas abandonner ce sujet sans le creuser davantage.

Dx.

LOIR, GERMOND ET HINDS. Le *Cumberland disease* des moutons. Rapport officiel au ministre des mines. Sydney, 1888.

Les savants envoyés en Australie par M. Pasteur, pour y étudier la question de la destruction des lapins par le microbe du choléra des poules, ont rencontré dans ces régions neuves une maladie épidémique des moutons sur la vraie nature de laquelle on ne savait encore rien, bien qu'elle tuât par an plus de 300,000 animaux. On la nommait *Cumberland disease*. Dès qu'ils ont été mis à même de s'en occuper, les savants français n'ont pas tardé à reconnaître que cette maladie n'était autre que le charbon, et voici les points essentiels du rapport sommaire qu'ils ont adressé à l'administration de qui ils tenaient leur mandat :

« Le 4^{er} mai, nous avons inoculé, à la face interne de la cuisse, deux jeunes brebis avec le sang d'un animal mort de la maladie que MM. Stanley (vétérinaire du gouvernement) et Devlin avaient dit être le *Cumberland disease*. L'un des animaux mourut en 40 heures avec les lésions ordinaires du sang de rate ou charbon. Œdème gélatineux au point d'inoculation, foie élargi, noir et mou, sang noir et coagulé, hémorragies sous-cutanées, urine sanglante, etc. Le 3 mai, avec le sang de cet animal, on inocule 4 souris, dont 3 moururent en moins de 18 heures. L'examen microscopique révèle chez toutes la présence du *bacillus anthracis*. Avec le sang de l'une d'entre elles, on fait une culture dans du bouillon de bœuf, dans lequel les bactériidies se multiplièrent avec leur aspect caractéristique... Le 7 mai, avec une de ces cultures, on inocule un lapin qui meurt en 29 heures, charbonneux... Ces expériences et ces cultures nous permettent donc d'établir : 1° que les lésions anatomiques du *Cumberland disease* sont les mêmes que celles du charbon...; 2° que cette maladie est due à un microbe dont les apparences en culture, et les propriétés physiologiques sont les mêmes que celles du *bacillus anthracis*; 3° que, par conséquent le *Cumberland disease* et le charbon sont une seule et même chose. »

La conclusion pratique de cette découverte est qu'il y a lieu de recourir à la vaccination charbonneuse. La pratique de cette vaccination se heurte en Angleterre à une loi protectrice des animaux qui défend de les protéger contre le charbon et les autres maladies virulentes contre lesquelles il existe des vaccins. En Australie, les scrupules ne sont pas les mêmes, paraît-il, car l'autorité compétente s'est tout de suite mise en quête des moyens d'assurer aux propriétaires et à leurs animaux les bienfaits de la vaccination charbonneuse.

Dx.

S. MALERBA ET G. SANNA-SALARIS. Recherches sur la gliscrobactérie. *Rendiconto d. R. Accad. di Sc. de Naples*, juin 1888.

Les auteurs ont appelé du nom de gliscrobactérie une bactérie qu'ils ont rencontrée dans l'urine d'un malade, et qui la rendait filante. Elle rend aussi filants le plupart des milieux où on l'ensemence, et en particulier la colle d'amidon, qui sous son influence se laisse tirer en fils de plus de un mètre de long. Mais ce caractère, si intéressant qu'il soit, semble mal choisi pour fournir un nom spécifique, car beaucoup d'autres bactéries le possèdent aussi, et à un degré au moins aussi marqué. Il serait sage, en présence de la confusion qui règne dans la classification des microbes et surtout en présence de celle qui se prépare, de choisir, pour former le nom de chaque bactérie, l'un de ses caractères spécifiques.

Les considérations de forme ne suffisent que rarement pour cela : MM. Malerba et Sanna-Salaris décrivent leur microbe comme un microcoque un peu allongé ayant $0,4\mu$ de largeur, et une longueur variable de $0,6\mu$ à $1,1\mu$, souvent un peu étranglé en son milieu, tantôt isolé, tantôt en chaînes de deux ou plusieurs, animé de mouvements faibles. Ils indiquent avec soin les divers aspects que prend la culture dans divers milieux, gélatine en plaques ou en tubes, gélose, pommes de terre, urine, lait, salive, sérum de sang, blanc d'œuf, bouillon. Toute cette partie du mémoire n'est pas susceptible d'analyse; il faudrait la reproduire tout entière, et encore sommes-nous convaincus que les savants italiens ont désespéré de rendre par des mots les divers aspects qu'ils avaient à cœur de peindre. C'est que cette morphologie des cultures devient à son tour quelque chose de très encombré, où chacun cherche à tort à compenser le vague des détails par leur multiplicité, leur qualité par leur quantité. Quelques faits précis vaudraient beaucoup mieux, et on ne saurait nier que le mémoire que nous analysons en soit pauvre. Ainsi la gliscrobactérie est facultativement aérobie et anaérobie, et donne des dégagements gazeux dans divers milieux. Il eût été intéressant d'analyser ces gaz, et c'est ce qui n'a pas été fait. La bactérie paraît vivre très bien dans l'empois d'amidon, sans y faire de glucose, mais qu'y fait-elle? C'est ce que les auteurs ne nous disent pas. Elle rend le lait acide en même temps que filant, mais sur quoi agit-elle, et quel est l'acide produit? Nous n'en savons rien. Nous sommes un peu mieux renseignés sur l'influence de la température. Celle qui est la plus favorable est de $35-38^{\circ}$ avec une limite supérieure de $40^{\circ}-41^{\circ}$, et une limite inférieure de

10 à 5°. En dehors de ces limites, le développement s'arrête, mais la vie des bactéries persiste, elle s'éteint seulement après 8^h à 50°.

Les expériences d'inoculation à des animaux sont encore trop peu nombreuses pour que les auteurs croient pouvoir en tirer des conclusions, et ils en annoncent de nouvelles.

Dx.

A. J. BROWN. Actions chimiques produites par le *Bacterium aceti*. — Sur un ferment acétique producteur de cellulose. *Journal of the chemical Society*, 1886, t. XLIX, p. 172 et 432; 1887, t. LI, p. 638.

Après avoir observé que le *mycoderma aceti* peut oxyder le glucose et transformer ce corps en acide gluconique, M. Boutroux a montré dernièrement dans ces *Annales* (t. II, p. 309) que cette transformation peut être produite également par le *micrococcus oblongus*, et qu'un autre être, morphologiquement identique, peut même pousser l'oxydation plus loin, et fournir un acide oxygluconique. M. A. J. Brown, reprenant l'étude des oxydations provoquées par le mycoderme du vinaigre, a ajouté aux résultats obtenus par M. Boutroux quelques faits nouveaux, intéressants au double point de vue chimique et microbiologique.

Le rôle le plus important du *mycoderma aceti* étant de transformer par oxydation l'alcool en acide acétique, M. Brown a été tout naturellement conduit à rechercher s'il peut oxyder les alcools homologues de l'alcool éthylique. Il a échoué avec les alcools méthylique et amylique, qui ne subissent, en présence du mycoderme, aucune altération; mais en cultivant le ferment acétique sur de l'eau de levure renfermant 3 0/0 d'alcool propylique normal, il a obtenu de l'acide propionique.

Cultivé sur de l'eau de levure renfermant soit du glycol, soit de la glycérine, avec un excès de craie, le mycoderme du vinaigre transforme ces corps en acide glycolique et acide glycérique, qu'on retrouve à l'état de sels de chaux; avec la glycérine on ne retrouve que de faibles quantités d'acide glycérique, parce que ce corps est oxydé à l'état d'eau et d'acide carbonique au fur et à mesure qu'il se forme.

Le ferment acétique n'exerce aucune action sur le saccharose, ou sur l'érythrite, mais son action sur la mannite est des plus intéressantes. Il ne se forme aucun acide, ni volatil, ni fixe, comme avec le dextrose (glucose); le liquide de culture (eau de levure avec 2, 5 0/0 de mannite) acquiert un goût très sucré et réduit fortement la liqueur de Fehling; par un traitement convenable on arrive à en isoler un sucre présentant toutes les propriétés du lévulose. Chose curieuse, le mycoderme respecte ce lévulose une fois formé; il est incapable de l'oxyder, et manifeste également cette propriété avec le lévulose préparé au moyen de l'inuline. Voilà donc deux sucres, le dextrose et le lévulose, que les récents progrès de la chimie des hydrates de carbone nous montrent comme ayant une constitution très peu différente, et qui cependant sont très différents comme aliments du mycoderme du vinaigre, cet être consommant l'un et laissant l'autre inaltéré. Peut-être faut-il voir dans des faits analogues l'explication des divergences

qu'on rencontre quelquefois chez les auteurs au sujet de l'alimentation hydrocarbonée des microbes : le terme *glucose* et le terme *sucré interverti* sont souvent employés indistinctement l'un pour l'autre, alors que le sucre interverti, mélange à poids égaux de glucose et de lévulose, peut fort bien n'avoir pas la même valeur alimentaire que le glucose pur.

Le lévulose obtenu par l'action du mycoderma aceti sur la mannite peut facilement être ramené à l'état de mannite par réduction au moyen de l'amalgame de sodium. M. Brown s'est assuré que cette mannite est identique à celle qu'on tire de la manne, et comme on peut également préparer cette mannite en traitant le dextrose par l'amalgame de sodium, il s'ensuit qu'avec l'aide du mycoderma aceti, et en passant par la mannite comme terme intermédiaire, on peut produire une transformation qui n'a été réalisée que tout récemment par des moyens chimiques seuls, celle du dextrose en lévulose.

La transformation inverse peut être réalisée en prenant comme auxiliaire un ferment acétique que M. Brown décrit longuement et qu'il appelle *Bacterium xylinum*, à cause de la curieuse propriété qu'il a de former de la cellulose. Cet être présente, au point de vue chimique, les mêmes propriétés que le ferment acétique dont il a été question jusqu'ici. Il en diffère par les caractères suivants.

Ce ferment forme à la surface des liquides de culture une membrane gélatineuse transparente, pouvant atteindre jusqu'à 25 m. m. d'épaisseur; cette membrane est plus dense que l'eau; si on l'agite, elle s'immerge, et est remplacée par une couche de nouvelle formation, de sorte qu'on peut obtenir une masse formée de couches superposées, d'apparence stratifiée. La membrane formée dans un liquide incolore est blanche et transparente; elle est douce au toucher, très résistante, et ne se laisse facilement diviser que dans le sens de la superposition des couches. Quel que soit le milieu de culture employé, on n'obtient jamais que cette forme membraneuse, caractère que ne présente jamais le mycoderma aceti pur. De plus, la pellicule de mycoderma aceti est désagrégée par la potasse à froid, tandis que la membrane décrite plus haut résiste à une ébullition de plusieurs heures avec ce réactif; l'action de l'acide sulfurique concentré et de l'iode la colorent en bleu foncé.

Au microscope, on voit des bactéries de 2 μ de longueur, souvent en chaînes de plusieurs articles, se colorant bien par le violet de méthyle, et noyées dans une masse homogène, transparente, présentant l'apparence d'une gelée. Dans les cultures vieilles, on voit souvent des formes de coccus de 0 μ 5, de diamètre, qui semblent être les spores du bacille. Dans les milieux défavorables comme l'eau de levure on trouve, dans la membrane, des bacilles en filaments très longs (10 à 30 μ). Sur le moût de bière gélatinisé on obtient des colonies sphériques à la surface ou au voisinage de la surface; la gélatine n'est pas liquéfiée.

Ce ferment se développe très bien dans l'eau de levure additionnée de lévulose; ce liquide constitue son meilleur milieu de culture. La température optima est 28°.

Il se développe également bien sur la mannite, qu'il transforme comme le mycoderma aceti, en lévulose; sur le dextrose, qu'il transforme en acide

gluconique ; il se développe péniblement sur l'eau de levure seule, et ne vit pas aux dépens du saccharose ou de l' amidon. Il acétifie l'alcool. Son action chimique est donc la même que celle du mycoderme du vinaigre ; mais il s'en distingue par la formation de la membrane décrite plus haut, membrane dont M. Brown a extrait un corps présentant toutes les propriétés de la cellulose qu'on peut extraire du coton, et répondant par sa composition à la formule de la cellulose.

Comme le mycoderma aceti, ce ferment acétique transforme donc la mannite en lévulose, mais il est capable de consommer à son tour ce lévulose pour en faire de la cellulose. M. Brown s'est assuré que le traitement de cette cellulose par l'acide sulfurique fournit un sucre présentant toutes les propriétés du dextrose ; il a, pour cette expérience, employé du lévulose pur, préparé au moyen de l'inuline, et a fait vivre le *B. xylinum* sur ce lévulose en solution dans l'eau de levure ; l'absence de dextrose a été prouvée par ce fait que le liquide est resté neutre : en présence du glucose il fût devenu acide, par suite de la formation d'acide gluconique. La cellulose obtenue, convenablement purifiée et bouillie avec de l'acide sulfurique, a fourni du dextrose.

Le *Bacterium xylinum* fournit donc un moyen de transformer un sucre lévogyre, le lévulose, en un sucre dextrogyre, le dextrose.

A. FERNBACH.

INSTITUT PASTEUR

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES SUR LES PERSONNES TRAITÉES A L'INSTITUT
PASTEUR DU 1^{er} AU 31 AOUT 1888.

Personnes traitées mortes de rage.

SINARDET (Alphonse), 26 ans, cultivateur à Polliot (Ain), mordu le 26 avril 1886 au petit doigt de la main droite ; trois blessures sur le bord externe. Le chien mordeur a attaqué des chiens et un enfant, puis a disparu. Les morsures ont été cautérisées au fer rouge 2 jours après. Sinardet a été traité du 3 mai au 12 mai 1886. Le 24 juillet 1888 (27 mois après la morsure), à la suite d'un refroidissement, il ressent dans le bras mordu une douleur qui part du petit doigt et s'étend à l'épaule et au côté droits. Le lendemain, impossibilité d'avaler. Le 27, il est transporté à l'Hôtel-Dieu de Bourg en proie à la rage convulsive ; il meurt le 28 juillet. Il a été observé par le Dr Passerot, de Bourg.

Sinardet fait partie de la statistique de 1886.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE ¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — AOUT 1888

	A		B		C	
Morsures à la tête { simples.....	»	1	»	1	»	»
et à la figure { multiples....	»	1	»	4	»	2
Cautérisations efficaces.....	1	»	»	»	1	»
— inefficaces.....	1	»	3	»	1	»
Pas de cautérisation.....	»	»	2	»	»	»
Morsures aux mains { simples.....	»	7	»	14	»	5
multiples.....	»	6	»	17	»	10
Cautérisations efficaces.....	4	»	2	»	6	»
— inefficaces.....	3	»	13	»	4	»
Pas de cautérisation.....	6	»	16	»	»	»
Morsures aux mem- { simples.....	»	1	»	14	»	2
bres et au tronc { multiples....	»	9	»	24	»	2
Cautérisations efficaces.....	1	»	2	»	»	»
— inefficaces.....	8	»	22	»	2	»
Pas de cautérisation.....	1	»	14	»	2	»
Habits déchirés.....	9	»	30	»	2	»
Morsures à nu.....	»	»	»	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps.....	»	2	»	7	»	1
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	»	»
— inefficaces.....	1	»	3	»	»	»
Pas de cautérisation.....	1	»	2	»	1	»
Habits déchirés.....	1	»	3	»	»	»
Morsures à nu.....	»	»	»	»	»	»
Totaux. { Français et Algériens..	..	27	..	73	..	14
Etrangers.....	..	0	..	8	..	3
	A		B		C	
TOTAL GÉNÉRAL..... 125						

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 119 fois; chats, 6 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.